Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin – Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und aus dem Institut für Hämatologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München (Leiter: Priv. Doz. Dr. S. Thierfelder)

DER EFFEKT DER ASCORBINSÄURE AUF MIT SCHNELLEN ELEKTRONEN (BETATRON, 35 MEV) BESTRAHLTES UND UNBESTRAHLTES KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Willi-Reinhart Braumann
aus Magdeburg

1975

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin – Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und aus dem Institut für Hämatologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München (Leiter: Priv. Doz. Dr. S. Thierfelder)

DER EFFEKT DER ASCORBINSÄURE AUF MIT SCHNELLEN ELEKTRONEN (BETATRON, 35 MEV) BESTRAHLTES UND UNBESTRAHLTES KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Willi-Reinhart Braumann
aus Magdeburg

Referent: Professor Dr. med. Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr. K. zum Winkel

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

UNIV. LEIDEN BIBL.

Promoviert am: 25. 1. 1975

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin -- Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

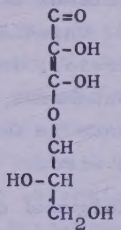
Meinen Eltern

INHALT

	Seite
Literaturüberblick	7
Problemstellung	15
Methode	17
Ergebnisse	24
Zusammenfassung der Ergebnisse	52
Diskussion	59
Zusammenfassung	66
Literaturverzeichnis	68

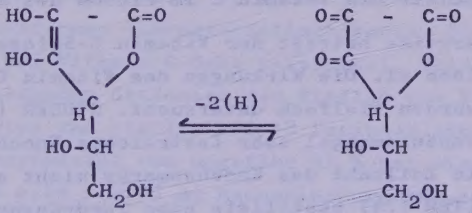
LITERATURÜBERBLICK

1923 gewann A. SZENT-GYÖRGYI (62) aus der Nebennierenrinde $C_6H_8O_6$, die er Hexuronsäure nannte. Vier Jahre später konnte nachgewiesen werden, daß diese Substanz mit der Ascorbinsäure identisch ist. HIRST (4o) stellte die heute allgemein anerkannte Formel auf:



Von SZENT-GYÖRGYI und W.N. HAWORTH (63) wurde diese Verbindung als Ascorbinsäure bezeichnet.

Von größtem Interesse bei der Anwendung der Ascorbinsäure war das Redoxsystem I $\rightleftharpoons$ II.



I
L - Ascorbinsäure

II
L - Dehydroascorbinsäure (26,34)

Die genaue Chemie der Dehydroascorbinsäure ist noch weitgehend unbekannt (33).

In saurer und in alkalischer Lösung scheint sich das Monhydrat der Dehydroascorbinsäure in die Enolform der 2,3-Diketo-gulonsäure umzulagern. Der Beweis wurde bisher nicht erbracht.

Im tierischen Organismus ist freie Ascorbinsäure und an Eiweiß gebundene Ascorbinsäure bekannt. Man glaubt, die gebundene Ascorbinsäure sei die Depotform des Vitamin C.

Innerhalb der Zelle findet sich anscheinend die Ascorbinsäure vorwiegend im Zytoplasma (HAGEN, 35). Für den Übergang der freien Ascorbinsäure zur gebundenen Ascorbinsäure sind weder der Mechanismus noch die Bedingungen eines Gleichgewichtes bekannt. Ungeklärt ist auch, ob die Dehydroascorbinsäure in freier, in gebundener oder in beiden Formen zu finden ist. Unbekannt ist, in welcher Form die aufgenommene Ascorbinsäure im Organismus verteilt und von den Geweben aufgenommen wird.

MARTIN (45) vermutete aufgrund der Beobachtung eines Anstieges des Ascorbinsäuregehaltes der Organe nach Injektion von Dehydroascorbinsäure, daß diese die Transportform des Vitamin C sei. Diese Meinung wird durch die Tatsache unterstützt, daß die Dehydroascorbinsäure eine größere Lipoidlöslichkeit als Ascorbinsäure hat. Nach STEWART (66) beträgt der Gehalt der Dehydroascorbinsäure 2o - 3o % vom Gesamtgehalt des Vitamin C im Plasma des Menschen.

Normalerweise beträgt der Vitamin C-Spiegel im Blut 8 - 12 mg/looo ml. Die Wirkungen des Vitamin C auf die Hämatopoese wurden vielfach untersucht. STUDER (69,7o) fand bei Ascorbinsäuremangel sehr fettreiches Knochenmark, während sich die Zellzahl des Knochenmarks nicht signifikant änderte. VILTER (74) bestätigte eine Verdrängung des Knochenmarks durch Fettzellen bei Vitamin C-Mangel. Ferner fand er die Erythropoese vermindert bei relativer Vermehrung der reifen Normoblasten.

PROEHL, MAY (53) sowie PILIERO, GORDON (51) verneinten die These, daß Vitamin C eine spezielle Funktion in der Hämatopoese ausübe. Sein Mangel könne aber eine Anämie auslösen oder verschlimmern.

HEILMEYER (38) berichtete über einen Tierversuch von MOURIGNANT und Mitarbeitern, die eine Vitamin C-Mangelanämie erzeugten. Durch das Fehlen von Ascorbinsäure gelang die Eisen-Mobilisierung aus dem retikulo-endothelialen System nicht. Die Folge war eine hypochrome Anämie aufgrund mangelnden Eiseneinbaues in die Erythroblasten bei gehäuften Mengen Depoteisens in den Retikulumzellen.

SEYDERHEIM und GREBE (6o), GAUBATZ und DEBOBEN (3o) beobachteten eine Beeinflussung der Retikulozytenzahl nach Gabe von 25 mg und 5o mg Vitamin C. BARBIER (3) stellte nach Gabe von 1 g Vitamin C i.v. starke spontane Retikulozytenschwankungen im Blut fest. Die Vermehrung blieb innerhalb der Fehlergrenze. 1oo mg Vitamin C bewirkte beim skorbutischen Meerschweinchen einen sofortigen Anstieg der Retikulozyten um das Fünffache des Ausgangswertes (24).

Mitteilungen über die Veränderungen der Granulopoese finden sich bei PETRAKIS (5o), der den Einfluß von Ascorbinsäure auf die Differenzierung mononukleärer Leukozyten zu Fibroblasten in Diffusionskammern in vivo beschrieb. An Ascorbinsäure verarmte Leukozyten aus skorbutischen Meerschweinchen entwickelten abnorme Zellformen, an denen Zellkernvergrösserungen und Riesenformen charakteristisch waren. Diese Veränderungen waren bei Vitamin C-Gabe reversibel. NEANDER (46) untersuchte bei gesunden Studenten den Einfluß von Vitamin C auf die Granulozyten und stellte bei 18 Personen einen Anstieg der Granulozytenzahl von ungefähr 42 % bei einem Plasmaspiegel von o,14 - o,28 mg Ascorbinsäure und auf 74,5 % bei einem Plasmaspiegel von 1,34 mg % fest. Fiel der Ascorbinsäurespiegel ab, so verminderte sich auch die Granulozytenzahl. SCHNETZ (59) stellte fest, daß sowohl nach unmittelbarer Gabe von 3oo mg Vitamin C i.v. als auch im Dauerversuch über mehrere Tage (2oo - 6oo - 9oo mg/die) Vitamin C einen normalisierenden Effekt auf die Leukozytenzahl besaß. Bei leukopenischer Ausgangslage wurde eine Erhöhung

der Leukozytenzahl, bei Leukozytose dagegen ein Absinken der Leukozytenzahl durch Vitamin C hervorgerufen.

Eine Eosinophilie durch Einfluß von Vitamin C, mit dem Maximum nach 48 Stunden, fand VANHA-PERTULLA (73) bei Ratten.

BARTLEY, KREBS und O'BRIEN (4) berichteten über 5 Personen, die während 14 Monaten eine Vitamin C-freie Kost erhielten. Die Leukozytenzahl fiel von durchschnittlich 8o5o/mm^3 zu Beginn des Experimentes auf 53oo/mm^3 nach 14 Monaten.

Bei akuter essentieller Thrombopenie trat bei BÖGER und MARTIN (11) durch Dosen von 2oo mg Vitamin C eine Normalisierung der Thrombozytenwerte auf. Auch STEPP (65) vertrat die Ansicht, daß Vitamin C die Thrombozytopoese bei Thrombopenie steigert.

Erste Versuche mit ionisierenden Strahlen und deren Wirkungen auf den Zellkern gehen auf das Jahr 19o3 zurück.

PERTHES (49) untersuchte bestrahlte Ascaris-Eier und registrierte mikroskopisch abnorme Kernteilungsfiguren der Zellkerne. Von POLITZER (52) wurde im Jahre 1934 eine Monographie über die "Pathologie der Mitose" geschrieben, die eine Zusammenfassung aller bis dahin auf diesem Gebiet verfassten Arbeiten darstellt. Er berichtete, daß nach Röntgenbestrahlung in allen untersuchten Geweben die Mitosen abnähmen. Um exaktere Aussagen machen zu können, schlug er vor, die Anzahl der Ruhezellen zu der Anzahl der Mitosen in ein Verhältnis zu setzen. JUUL und KEMP (42) stellten später fest, der Abfall der Mitosen sei der applizierten Dosis direkt proportional.

Mit der Auswirkung ionisierender Strahlen auf das Knochenmark beschäftigten sich viele Veröffentlichungen. Im Folgenden werden in vitro- von in vivo-Untersuchungen unterschieden.

In vivo-Untersuchungen können wieder differenziert werden in solche, bei denen der Gesamtorganismus einer penetrierenden Strahlung ausgesetzt wird und in solche mit Teilkörperbestrahlungen. Die Kenntnisse über penetrierende Strahlen auf den Menschen als Gesamtorganismus stammen aus den Atombombenabwürfen über Hiroshima und Nagasaki (44), den Bewohnern des Atombombenversuchsfeldes der Marshallinseln (22,32), den Patienten mit therapeutischer Ganzkörperbestrahlung (8,27) und den Personen, die bei Strahlenunfällen exponiert wurden (48).

Nach FLIEDNER (28) können bei der Ganzkörperbestrahlung 4 Stufen der Organmanifestationen, die der Dosisstärke proportional sind, unterschieden werden:

I. "Neurologische Form"
Strahlendosen über 900 R. Mortalität 100 %.

II. "Gastrointestinale Form"
Strahlendosen 500 - 900 R. Mortalität fast ebenso hoch.

III. "Hämatopoetische Form"
Strahlendosen 100 - 500 R. Die Schäden beruhen hier auf einer akuten Knochenmarkschädigung.

IV. "Form ohne Symptomatik"
Strahlendosen unter 200 R.

Bei der Teilkörperbestrahlung konnte man am Menschen in Bezug auf die Hämatopoese zeigen, daß die Abdeckung eines Markanteiles die Regeneration der bestrahlten Markteile beschleunigte (45).

Einen guten Überblick über die Problematik der Anwendung von β-Strahlung, γ-Strahlung, Neutronen-Strahlung oder einer Mischung, sowie der Dosisrate, vermittelt die Monographie von CRONKITE und BOND (22). Die näheren Untersuchungen strahleninduzierter Markschädigung ergaben haupt-

sächlich zwei pathogenetische Faktoren (6,19,21,23,67,68):

Erstens die sofortige Zellschädigung als primärer Tod von Zellen, die sich in besonders empfindlicher Stoffwechselphase befanden oder als latenter Zellschaden, der sich in nachfolgenden Zellteilungen manifestierte.

Zweitens die Schädigung am bestrahlten Knochen. Hier fand eine Aufhebung der normalen rhythmisch alternierenden Eng- und Weitstellung der Segmente des Sinussystems mit allgemeiner Dilatation der Sinus statt. Ebenso wurde eine nichtthrombopenische Markhämorrhagie beobachtet. Die Ergebnisse wurden an Ratten und Hunden, die mit verschiedenen Strahlendosen bestrahlt waren, erhoben (FLIEDNER, 18,29).

BAUER (5) bestrahlte Femuren von Kaninchen mit Dosen zwischen 5o und 9ooo R. Er kam zu dem Ergebnis, die Erythropoese sei bei kleineren Dosen strahlensensibler als die Granulopoese. Erste Schädigungen der Granulopoese zeigten sich erst als die Erythropoese schon Veränderungen aufwies. SCHERER und STEPHAN (57) bestätigten das mit ihrer Monographie über die "Strahlenpathologie der Zelle".

HARTWEG (36,37) fand bei Mäusen, die mit loo R bestrahlt wurden, als erste Abweichung am Knochenmark Änderungen der Kernstruktur der Proerythroblasten, Myeloblasten und Promyelozyten.

Um übersichtlichere, d.h. besser standardisierte Ausgangsbedingungen zu schaffen, boten sich in vitro-Untersuchungen mit ionisierenden Strahlen auf das Knochenmark an. RACHMILEWITZ, ROSIN, GOLDHABER und DOJANSKI (54) sahen an bestrahlten Kulturen von Kaninchen-Knochenmark eine Mitoseverminderung, wie sie schon aus in vivo-Versuchen bekannt war (5).

ASTALDI, MAURI und DiGUGLIELMO (1) stellten mittels ihres stathmokinetischen Testes fest, daß Röntgenstrahlen die Proliferationstätigkeit der Erythroblasten des in vitro

überlebenden Knochenmarks in Abhängigkeit von der applizierten Dosis hemmten. Eine Verminderung der Mitosen um 5o % wurde bei 5o R und um 8o % bei 5oo R ermittelt.

Die von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN (15) im Jahre 1956 fertiggestellte Arbeit über "Quantitative und qualitative Veränderungen an röntgenbestrahlten Knochenmarkkulturen" gab Auskunft über die Wirkung verschiedener Dosen Röntgenstrahlen auf die Mitoseindices der Granulo- und Erythropoese. Kleinere Dosen von 1oo R ließen keine Veränderungen der Mitoseindices erkennen. Von 2oo - 1ooo R wurde eine direkt proportionale Verminderung der Mitoseindices - sowohl der roten als auch der weißen Reihe - zur Dosisrate gefunden. Bei den unbestrahlten Kontrollkulturen herrschten frühe Mitosephasen vor, bei den bestrahlten Kulturen überwogen die späten Mitosephasen. Bei Dosen zwischen 5oo und 1ooo R traten gehäuft Kernanomalien, besonders in der Erythropoese, auf. Dosen von 1ooo R bewirkten nach KOPPE (43) eine erhebliche allgemeine Zellschädigung. Nach Meinung von BOLL und FUCHS (17) kam es bei Dosen von 1ooo R zu einer totalen Zellschädigung, was FUCHS in derselben Arbeit mathematisch nachweisen konnte. Zu den gleichen Ergebnissen kam ZAK (75), der bei 1ooo R eine irreparable Markschädigung nach Einzeitganzkörperbestrahlung bei Mäusen feststellte.

Neue Möglichkeiten der Strahlentherapie wurden durch die Entwicklung des Betatrons sichtbar. Das Betatron erzeugt, anders als herkömmliche Röntgentherapieanlagen und Kobaltbomben, primär eine Elektronenstrahlung, wobei die Energie der Elektronen wählbar ist (25).

Für die folgenden Untersuchungen wurde die Bestrahlung mit schnellen Elektronen gewählt, da über sie und ihre Wirkungsweise am menschlichen Knochenmark wenig bekannt ist. Über den biologischen Unterschied dieser Strahlenart zu den Röntgenstrahlen, der konventionellen Röntgentherapie oder der

ultraharten Bremsstrahlung liegen bisher wenig Forschungsergebnisse vor. In einer experimentellen Arbeit zur Bestimmung der relativen biologischen Wirksamkeit von schnellen Elektronen wies GÄRTNER (31) 1958 darauf hin, daß an der Hühnerfibroblastenkultur die Mitoseverminderung bei 25o R schnellen Elektronen nur ca. die Hälfte betrug wie bei gleicher Dosierung mit konventioneller Röntgenbestrahlung (18o KV).

Beim Studium der Literatur fanden wir auch einige Arbeiten, die sich mit der Röntgenbestrahlung in Verbindung mit Vitamin C befassen. Eine Senkung des Ascorbinsäurespiegels durch Bestrahlung mit subletalen Dosen wiesen mehrere Autoren (56, 61,71) nach. Zu ähnlichen Ergebnissen kam DOLGOVA (24). Eine Abhängigkeit der Senkung des Ascorbinsäurespiegels von der Röntgendosis fanden BIRKNER, SUCHOWSKY und TRAUTMANN (1o). STEPANOVA und IVANOV (64) konnten im Gegensatz dazu bei Meerschweinchen mit letaler Röntgendosis keine Störung des Ascorbinsäurestoffwechsels finden.

Versuche der Erklärung der Wirkung von Röntgenstrahlen auf Vitamin C im Organismus fanden wir bei DOLGOVA (24), der das Ascorbinsäuredefizit nach Bestrahlung als neurodystrophische Störung auffasste. Nach SKULME (61) lagerte sich die Ascorbinsäure nach Bestrahlung in die lebenswichtigen Organe um. BERTHELMESS, FÜRST und HUBER (9) sahen in dem Redoxkatalysator Ascorbinsäure einen natürlichen Schutzstoff gegen röntgeninduzierte Chromosomenschäden. BACQU und ALEXANDER (2) waren dagegen der Ansicht, die reduzierende Wirkung der Ascorbinsäure stelle keinen Strahlenschutz dar.

PROBLEMSTELLUNG

In einer Reihe von Untersuchungen, die die Wirkung von schnellen Elektronen und Photonen, auch unter Ascorbinsäureeinwirkung vergleichen, befaßt sich diese Arbeit mit der Aufzeichnung der direkten Beeinflussung des Knochenmarks durch Vitamin C (3 mg% als höchste therapeutisch erreichbare Dosis) einerseits und durch Vitamin C in Verbindung mit 4oo R schnellen Elektronen andererseits.

Es wurde die Bestrahlungsdosis von 4oo R gewählt, da aufgrund der Erfahrung von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN (15) diese Dosis eine Mitoseverminderung und Zellveränderungen bedingt. Höhere Strahlendosen würden einen starken Zellverfall hervorrufen und eine exakte Auszählung verhindern. Es sollen folgende Fragen geklärt werden:

1. Wie verhält sich die Regeneration - kenntlich an den Mitoseindices - der Granulo- und Erythropoese der bestrahlten Kulturen, verglichen mit den nur mit Ascorbinsäure behandelten Kulturen zueinander?
   Wird eine Reihe stärker beeinflußt als die andere?
   Ist der Mitoseablauf gestört?
   Dies wird ersichtlich an den karyologischen Kurven.

2. Wie ist die Reifung der Erythro- und Granulopoese unter Ascorbinsäure in vitro nach der Differentialzählung während 3 Tagen Kulturdauer zu beurteilen?
   Wie wird sie durch die Bestrahlung verändert?

Dazu wurden nach Auszählung von 7Oooo Zellen

a) Reifungskurven der Kulturen bis zu 72 Stunden - getrennt für Erythropoese und Granulopoese - erstellt. Eine Mittelwertkurve faßt die Ergebnisse aller Zählungen zusammen.

b) Es wurde eine karyologische Kurve der Mitosephasen aufgezeichnet, differenziert in Granulo- und Erythropoese.

c) Eine Tabelle der G/E Indices gibt das relative Verhältnis von allen weißen zu den roten Vorstufen wieder.

d) Mitoseindices wurden für 0, 24, 48 und 72 Stunden angegeben. Der Mitoseindex (Angabe in %o) gibt die Anzahl der Mitosen, bezogen auf die Gesamtzahl teilungsfähiger Zellen, wieder.

e) Zusätzlich soll eine Beschreibung der morphologischen Veränderungen der Knochenmarkzellen nach Bestrahlung erfolgen.

Nach Erhebung dieser Befunde soll im Vergleich mit der Dissertation von CIARKOWSKI (2o) der Effekt des Ascorbinsäurezusatzes gegenüber Kontrollen ohne diesen Zusatz und Bestrahlung mit schnellen Elektronen verglichen werden.

Weiterhin soll der Effekt der mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen auf die Bestrahlung mit schnellen Elektronen gegenüber mit Photonen bestrahlten Knochenmarkkulturen (HEINZE, 39), sowie mit Photonen und Vitamin C (TAPPER, 72) verglichen werden. Darüber hinaus soll ein Vergleich mit den Einwirkungen von Vitamin C allein auf das Knochenmark (SCHMIDT, 58) stattfinden.

METHODE

Das Knochenmark wurde durch Sternalpunktionen von verschiedenen Patienten, die unterschiedliche - aber nicht leukämische - Krankheitsbilder darboten, gewonnen. Für die Knochenmarkkultivierung wurde die CARREL'sche Methode, modifiziert von BOLL (12) benutzt.

Die Nährflüssigkeit setzte sich zusammen aus:

5o	%	Nativplasma des betreffenden Patienten
1o	%	Corhormon^{R}, dreifach verstärkt (Fa. Chemiewerke Homburg)
4o	%	HANK's Lösung
3 mg	%	Ascorbinsäure (Fa. DROBENA) Natriumaskorbat

Jeweils ein Tropfen dieser Mischung wurde auf Deckgläser aufgebracht, der nach einigen Minuten ein Koagulum bildete. Auf dieses Koagulum wurden Knochenmarkbröckel übertragen, die mit Eisenserum bedeckt und mit einem hohlgeschliffenen Objektträger und Hartparaffin luftdicht verschlossen wurden. Die Knochenmarkkulturen wurden bei 37° C in einem Brutschrank inkubiert. Ein anderer Teil des (gewonnenen) Knochenmarks wurde in HANK's Lösung, Heparin und Ascorbinsäure aufgefangen, in einen speziellen Plexiglashohlschliffträger eingebracht und möglichst schnell nach der Punktion der Bestrahlung ausgesetzt. Die Bestrahlung wurde mit dem Betatron, 35 MEV, durchgeführt. Die Bestrahlungsdosis war 4oo R bei einer Dosisleistung von ca. 35o R/min. Die Dosierung berechnete CIARKOWSKI.

Um eine Homogenisierung der Bestrahlungsfelder zu erreichen, wurde das zu bestrahlende Präparat in einen rotierenden

---

Wir danken der Röntgenabteilung (Chefarzt Dr. med. Westerkamp) für die freundliche Unterstützung der Arbeit.

Plexiglasbehälter eingelegt. Eine Bedeckung mit einer Plexiglasschicht von 3,1 cm Stärke war erforderlich, um loo % der applizierten Dosis auf das Präparat einwirken zu lassen. Danach wurden die bestrahlten Knochenmarkbröckel auf Koagula, wie oben beschrieben, transferiert und Deckglaskulturen angelegt.

Bestrahlte und unbestrahlte Kulturen wurden bei 37^{o} C in einen Brutschrank inkubiert und nach 24, 48 und 72 Stunden je zwei Ausstriche angefertigt. Für die luftgetrockneten Ausstriche wurde die Färbung nach PAPPENHEIM mit Lösungen nach MAY-GRÜNWALD und GIEMSA benutzt. Der bessere von beiden Ausstrichen wurde jeweils zu der mäanderförmigen Zählweise besonders der Randgebiete der Ausstriche herangezogen. Aufgrund der Erfahrung von BOLL und FUCHS (16) wurden pro Präparat 2ooo Zellen ausgezählt, um eine möglichst repräsentative Auszählung zu garantieren.

Von den insgesamt gezählten 7Oooo Zellen wurden 56ooo für die Auswertung herangezogen. Die Ausstriche eines Versuches wiesen einen unerklärlich großen Zelluntergang auf.

Die Differenzierung der "Roten Reihe" erfolgte in:

Proerythroblast
basophiler Erythroblast
polychromatischer Erythroblast
reifer Erythroblast

Alle Erythroblasten, mit Ausnahme der reifen Erythroblasten, wurden als teilungsfähig angesehen.

Die Differenzierung der "Weißen Reihe" erfolgte in:

Myeloblast
Promyelozyt
neutrophiler Myelozyt
eosinophiler Myelozyt
Metamyelozyten (neutrophile jugendliche Granulozyten)

stabkerniger Granulozyt
neutrophiler segmentkerniger Granulozyt
eosinophiler segmentkerniger Granulozyt
Monozyt

Hierbei rechneten Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten zu den teilungsfähigen Zellen.

Die Differenzierung der einzelnen Zellen erfolgte nach BOLL (14), ebenso die Einteilung der verschiedenen Mitosephasen:

1. Prophase:
   Fehlen der Kernmembran, Lockerung der Kernsubstanz und Auflösung des Nucleolus. Anordnung der Chromosomen zu einem festen Spirem.

2. Frühe Metaphase:
   Bildung eines lockeren Spirems. Verteilung der Chromosomen über die ganze Zelle.

3. Späte Metaphase:
   Stadium der Äquatorialplatte, die in der Aufsicht als Monaster mit sternförmig angeordneten Chromosomen erkennbar ist.

4. Anaphase:
   Diasterbildung mit verschiedenen Stadien der Abwanderung der Chromosomen zu den Spindelpolen hin.

5. Telophase:
   Einschnürung des Zytoplasmas. Die Chromosomen bilden jetzt ein lockeres Dispirem.

6. Rekonstruktionsphase:
   Bildung eines festen Dispirems. Kernausbildung und Membranausbildung in den durch Zytoplasmateilung entstandenen zwei Zellen.

Die Kulturen stammten vom Knochenmark nachstehend aufgeführter Patienten:

Versuch 1: Patientin W.R., 45 Jahre

Einweisung:
2.1.1968

Klin. Diagnose:
Akuter Schub einer chronischen Pyelonephritis

Medikation bis zur Sternalpunktion:

Terramycin^{R}	1,o i.m.
Euphyllin^{R}	o,24 i.v.
Dominal forte^{R}	4o mg 1 Drg.
Nitrokapsel	1
Lanicor^{R}	o,25 mg 2 x 1 Tabl.

Blutbild vom 3.1.1968:

Erythrozyten:	2,7 Mill/mm^3
Hämoglobin:	9,2 g%
HbE:	34,o pg
Leukozyten:	8ooo/mm^3
Stabkernige:	7 %
Segmentkernige:	8o %
Lymphozyten:	6 %
Monozyten:	4 %
atypische mononukleäre Zellen (AMZ)	3 %
BSG:	44/74
Elektrophorese:	Albuminverminderung

Versuch 2: Patientin I.S., 44 Jahre

Einweisung:
11.3.1969

Klin. Diagnose:
Hämorrhagische Diathese durch idiopathische Thrombopenie. Zustand nach Splenektomie

Medikation bis zur Sternalpunktion:

Imurel^{R}	3 x 5o mg
Konakion^{R}	3 x 1o Tropfen
Mixtura peps.	3 Esslöffel

Blutbild vom 29.4.1969:

Erythrozyten:	4,3 Mill/mm^3
Hämoglobin:	13,2 g%
HbE:	3o,6 pg
Leukozyten:	8ooo/mm^3
Eosinophile:	3 %
Stabkernige:	4 %
Segmentkernige:	75 %
Lymphozyten:	13 %
Monozyten:	3 %
AMZ:	2 %
Thrombozyten:	35ooo/mm^3

Versuch 3: Patientin A.H., 78 Jahre

Klin. Diagnose:

BURKITT Tumor? Differentialdiagnose: Lymphosarkom

Knochenmarkdiagnose am 1o.7.1968:

Kein Nachweis von BURKITT-Zellen

Therapie bis zur Sternalpunktion:

Bestrahlung mit schnellen Elektronen von Lymphomen über ein Halsfeld, 3 x 4oo R/Woche (2o MEV - Dosis 4oo R)+

Blutbild vom 12.7.1968:

Erythrozyten:	4,5 Mill/mm^3
Hämoglobin:	11,6 g%
HbE:	2o,o pg
Anisozytose	+
Poikilozytose:	+
Leukozyten:	69oo/mm^3
Eosinophile:	1 %
Stabkernige:	9 %
Segmentkernige:	42 %
Lymphozyten:	29 %
Monozyten:	19 %
Thrombozyten:	132 5oo/mm^3

+ Diese Dosis ist nach Angabe von Chefarzt Dr. med. Westerkamp zu gering, um einen Einfluß auf das Knochenmark ausüben zu können.

Versuch 4: Patientin M.Z., 6o Jahre

Einweisung:
15.1.1968

Klin. Diagnose:
Kollumkarzinom III (nicht verhornendes Plattenepithelkarzinom). Zustand nach Radiumtherapie und Therapie mit schnellen Elektronen

Medikation bis zur Sternalpunktion:

Lanicor^{R}	o,25 mg 2 x 1 Tabl.
Furadantin^{R}	4oo mg 4 Tabl.

Blutbild vom 16.1.1968:

Erythrozyten:	3,4 Mill/mm^3
Hämoglobin:	1o,6 g%
HbE:	3o pg
Leukozyten:	37oo/mm^3
Myelozyten:	1 %
Metamyelozyten:	2 %
Stabkernige:	16 %
Segmentkernige:	58 %
Lymphozyten:	15 %
Monozyten:	1 %
AMZ:	7 %
Thrombozyten:	153 ooo/mm^3

ERGEBNISSE

Die Mitoseindices (Tabellen 1 und 2) zeigten starke Unterschiede zwischen der Erythropoese und der Granulopoese:

In den bestrahlten Kulturen der E r y t h r o p o e s e zeigten sich keine Mitosen.
Die unbestrahlte Erythropoese zeigte einen leichten Anstieg zum 24-Stunden-Wert, dem ein starker Abfall zum 48-Stunden-Wert folgte. Im 72-Stunden-Präparat waren keine Mitosen mehr vorhanden.

Ein anderes Bild bot die G r a n u l o p o e s e . Die Mittelwerte der Mitoseindices der unbestrahlten Kulturen zeigten nach 24 Stunden einen leichten Anstieg der Mitoseindices, dem ein langsamer Abstieg bis zu 72 Stunden folgte.
Die mit Vitamin C versetzten und mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen der Granulopoese zeigten einen starken Abfall des Mitoseindexes nach 24 Stunden. Der 24-Stunden-Wert fiel um 5o % des Ausgangswertes. Einen Anstieg um das Vierfache des 24-Stunden-Wertes ließ der 48-Stunden-Wert erkennen. Der 72-Stunden-Wert entsprach dem Mitoseindex des Originalpräparates.

Bei 56ooo differenzierten Zellen konnten nur 49 Mitosen für die Erythropoese und 251 Mitosen der Granulopoese gezählt werden. Es wurde eine graphische Darstellung (Abb. A) beider Reihen angefertigt. Eine Kurve der Mitoseindices der mit Vitamin C versetzten und mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen der Erythropoese konnte nicht ermittelt werden.

Tabelle 1:

Mitoseindices der Erythropoese in ‰ angegeben:

	Original-präparat	Vitamin C+ 400 R 24 h	48 h	72 h	Vitamin C 24 h	48 h	72 h
Versuch 1	26	-	-	-	-	-	-
Versuch 2	16	-	-	-	53	18	-
Versuch 3	8	-	-	-	27	-	-
Versuch 4	7	-	-	-	-	-	-
Arithm. Mittel	14,2	-	-	-	20	4,5	-

Tabelle 2:

Mitoseindices der Granulopoese in ‰ angegeben:

	Original-präparat	Vitamin C+ 400 R 24 h	48 h	72 h	Vitamin C 24 h	48 h	72 h
Versuch 1	14	4	17	9	11	16	11
Versuch 2	18	5,5	23	10	21	17	20
Versuch 3	16	10	7	9	14	11	-
Versuch 4	10	5,9	27	29	13,8	12,4	7,5
Arithm. Mittel	14,5	3,8	18,5	14,2	15	14	9,6

Erläuterungen

zu den nachfolgenden Diagrammen der Mitoseindices der Erythro- und Granulopoese:

- Mittelwerte aus 5 Versuchen -

1. Abbildung A = Mitoseindices der Granulopoese

2. Abbildung B = Mitoseindices der Erythropoese

3. Ordinate = Kulturdauer in Stunden (h)

4. Abszisse = Mitoseindices, getrennt nach Erythro- und Granulopoese, in ‰ angegeben

5. ———— = nur mit Ascorbinsäure versetzte Kulturen

6. --------- = zusätzlich mit 4oo R schnellen Elektronen bestrahlte Kulturen

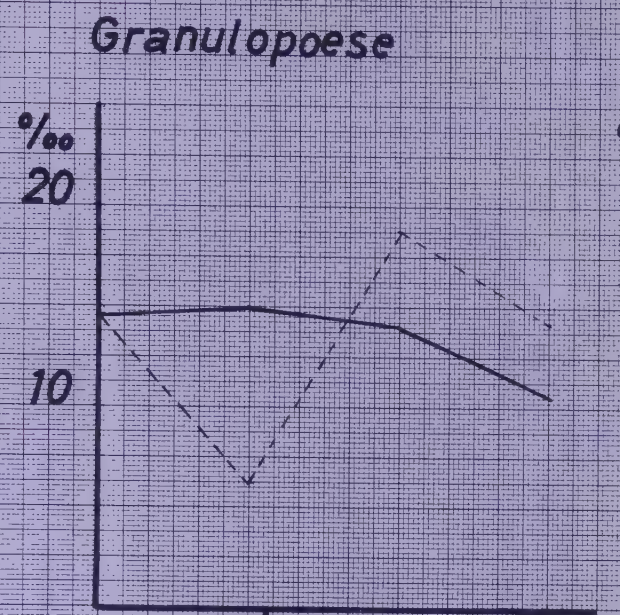


Abbildung A

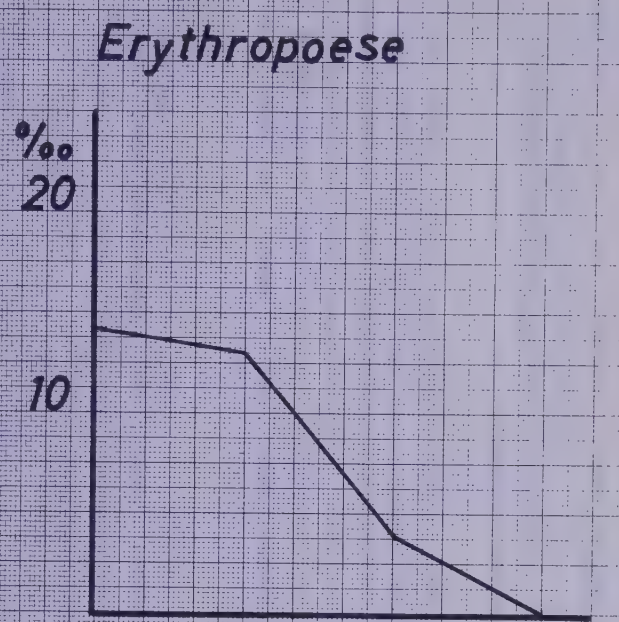


Abbildung B

Karyologische Kurven (Abb. C und D):

Die Mitosephasenverteilung wurde in den karyologischen Kurven zeichnerisch dargestellt.

Wegen der relativ geringen Anzahl der Mitosen wurden nur Summenkurven der Erythropoese mit 49 Mitosen und der Granulopoese mit 251 Mitosen aufgestellt, von letzteren waren 106 Mitosen bestrahlt. Für eine Signifikanzberechnung als Paardifferenz der bestrahlten und unbestrahlten Kulturen mit dem T-Test nach STUDENT war die Anzahl der Mitosen zu gering.

In der E r y t h r o p o e s e zeigten sich bei den unbestrahlten Kulturen 2 Gipfel. Der erste Gipfel wurde von der späten Metaphase gebildet; der zweite Gipfel stellte die Rekonstruktionsphase dar.

In der G r a n u l o p o e s e zeigte sich ein Gipfel bei den späten Metaphasen. Gleichzeitig war eine starke Abnahme der späten Phasen, sowohl bei den bestrahlten als auch bei den unbestrahlten Kulturen, festzustellen.

Erläuterungen

zu den nachfolgenden karyologischen Kurven der Erythro- und Granulopoese der Summe aller Patienten:

1. Abbildung C = Karyologische Kurve der Erythropoese

2. Abbildung D = Karyologische Kurve der Granulopoese

3. Ordinate = Ablauf einer Mitose entsprechend, jeweils in additiver Form aufgetragen. Folgende Abkürzungen wurden benutzt:

P	=	Prophase
FM	=	frühe Metaphase
SM	=	späte Metaphase
A	=	Anaphase
T	=	Telophase
R	=	Rekonstruktionsphase

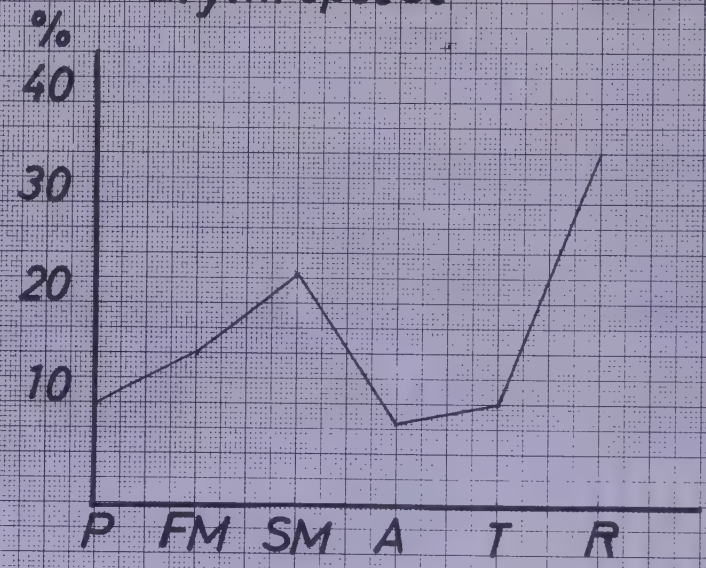
4. Abszisse = Mitosephasen in % angegeben

5. ———— = nur mit Ascorbinsäure behandelte Kulturen

6. -------- = zusätzlich mit 400 R schnellen Elektronen bestrahlte Kulturen

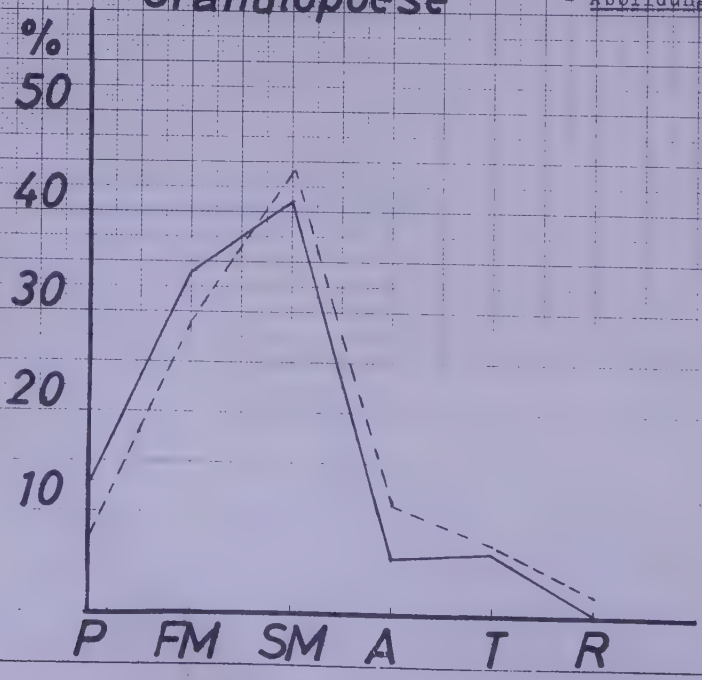
Erythropoese

- Abbildung C -



Granulopoese

- Abbildung D -



Die Ergebnisse der Differentialzählung der roten und der weißen Reihe sind in den Tabellen 3 und 4 wiedergegeben. Die daraus angefertigten Reifungskurven ließen folgendes erkennen (Abb. E - N):

In der Erythropoese der unbestrahlten und mit Ascorbinsäure behandelten Kulturen (Tab. 3) sahen wir bis auf Versuch 2 im 24-Stunden-Wert eine Verminderung der Proerythroblasten sowie bei allen Versuchen eine Verminderung der basophilen Erythroblasten. Die Versuche 1 und 3 zeigten nach 48-stündiger Kulturdauer keine basophilen Erythroblasten mehr. Erstaunlicherweise waren nach 72-stündiger Kulturdauer in allen 4 Versuchen wieder basophile Erythroblasten vorhanden, dafür fehlten zum Teil Proerythroblasten.

Die polychromatischen Erythroblasten verzeichneten einen kontinuierlichen Abfall vom Original zum 72-Stunden-Wert. Die reifen Erythroblasten nahmen entsprechend zu.

Die bestrahlten Kulturen der Erythropoese zeigten folgendes Verhalten:

Es kam zu einem stärkeren Abfall der Proerythroblasten, basophilen Erythroblasten und polychromatischen Erythroblasten im 24- und 48-Stunden-Wert. Nach 72-stündiger Kulturdauer zeigte sich dann wieder eine leichte Vermehrung dieser drei Zellformen. Die reifen Erythroblasten erreichten wie bei den unbestrahlten Kulturen die größte Prozentzahl im 48-Stunden-Wert.

Erläuterungen

zu den nachfolgenden Tabellen und graphischen Darstellungen.

Es gelten folgende Abkürzungen der einzelnen Zellarten:

1. Erythropoese

Proerythroblast	=	PE
basophiler Erythroblast	=	bE
polychromatischer Erythroblast	=	pE
reifer Erythroblast	=	rE

2. Granulopoese

Myeloblast	=	Mb
Promyelozyt	=	P
Myelozyt	=	My
eosinophiler Myelozyt	=	eMy
Jugendlicher	=	J
Stabkerniger	=	St
Segmentkerniger	=	Se
eosinophiler Segmentkerniger	=	eSe
Monozyten	=	Mz

3. ———————— = Kulturen mit Vitamin C

4. ---------- = Kulturen mit Vitamin C + 400 R

Tabelle 3:

Ergebnisse der Differentialzählung der Erythropoese aller Versuche

Originalpräparate:	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	32	61	273	182
Versuch 2	30	69	328	76
Versuch 3	22	30	131	73
Versuch 4	45	116	350	155
Summe aller Versuche	129	276	1082	486

Kulturen mit Vitamin C:

24 Stunden	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	17	29	337	127
Versuch 2	32	21	79	501
Versuch 3	16	45	158	318
Versuch 4	22	48	191	85
Summe aller Versuche	87	143	765	1031

48 Stunden	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	3	-	193	498
Versuch 2	19	19	73	522
Versuch 3	5	-	32	253
Versuch 4	6	8	102	287
Summe aller Versuche	33	27	400	1560

72 Stunden	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	17	10	115	250
Versuch 2	4	12	12	292
Versuch 3	-	8	65	428
Versuch 4	-	2	26	163
Summe aller Versuche	21	32	218	1133

Zeichenerklärung siehe Seite 32

Tabelle 3: (Fortsetzung)
Ergebnisse der Differentialzählung der Erythropoese aller Versuche

Originalpräparate:	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	32	61	273	182
Versuch 2	30	69	328	76
Versuch 3	22	30	131	73
Versuch 4	45	116	350	155
Summe aller Versuche	129	276	1082	486

Kulturen m.Vit.C + 400 R:

24 Stunden	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	12	49	133	351
Versuch 2	14	3	81	648
Versuch 3	4	6	102	397
Versuch 4	12	11	126	140
Summe aller Versuche	42	69	442	1536

48 Stunden	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	1	-	99	402
Versuch 2	8	1	16	489
Versuch 3	-	-	22	514
Versuch 4	6	2	58	285
Summe aller Versuche	15	3	195	1690

72 Stunden	PE	bE	pE	rE
Versuch 1	8	2	99	208
Versuch 2	6	-	30	416
Versuch 3	4	24	74	780
Versuch 4	6	6	56	250
Summe aller Versuche	24	32	259	1654

Zeichenerklärung siehe Seite 32

Die unbestrahlten und mit Ascorbinsäure behandelten Kulturen der Granulopoese (Tabelle 4) ergaben folgendes:

Die jugendlichen Formen der weißen Reihe bis zu den eosinophilen Myelozyten waren nach 24 Stunden Kulturdauer gegenüber dem Ausgangspräparat vermehrt. Es folgte dann ein konstanter Abfall bis zum 72-Stunden-Wert, aber selbst hier lagen die Zahlen der Promyelozyten, der Myelozyten und der eosinophilen Myelozyten über denen des Originals.

Bei den Jugendlichen und Stabkernigen war vom Original bis zum 72-Stunden-Wert ein Abfall zu verzeichnen. Die Segmentkernigen waren im 24-Stunden-Präparat stark vermindert. Im 48-Stunden-Präparat wurde wieder ein leichter Anstieg festgestellt, während der 72-Stunden-Wert die niedrigste Zahl an Segmentkernigen aufwies.

Die meisten eosinophilen Segmentkernigen fanden sich nach 24 Stunden; es folgte ein konstanter Abfall bis zum 72-Stunden-Wert. Die Zellzahl an Eosinophilen des 72-Stunden-Wertes lag über der des Originals.

Interessanterweise fanden sich im Betatron-vorbestrahlten Versuch 4 weder im Originalpräparat noch in den bestrahlten oder in den unbestrahlten Kulturen eosinophile Myelozyten und eosinophile Segmentkernige.

Die bestrahlten Kulturen der Granulopoese (Tabelle 4) zeigten eine Vermehrung der Myelozyten, besonders ausgeprägt nach 24 Stunden Kulturdauer, in Versuch 2 auch der Promyelozyten, in Versuch 1 auch der Stabkernigen.

Tabelle 4:

Ergebnisse der Differentialzählung der Granulopoese aller Versuche

Originalpräparate:

	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	14	131	226	39	148	128	409	25	-
Vers.2	15	168	143	19	188	54	575	22	41
Vers.3	22	101	211	-	255	79	585	8	85
Vers.4	14	126	369	-	209	225	211	-	20
Summe d. Versuche	65	526	949	58	800	386	1780	55	146

Kulturen mit Vitamin C:

24 Stunden	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	7	360	368	52	140	13	210	37	4
Vers.2	18	239	168	65	190	55	207	47	33
Vers.3	21	142	268	17	190	70	433	7	23
Vers.4	4	585	396	-	175	137	112	-	1
Summe d. Versuche	50	1326	1200	134	695	275	962	91	61

48 Std.	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	1	193	239	28	51	8	187	19	-
Vers.2	12	237	274	47	132	74	445	52	18
Vers.3	5	140	290	3	113	42	399	9	6
Vers.4	2	423	276	-	184	127	388	-	5
Summe d. Versuche	20	993	1079	78	480	251	1419	80	29

72 Std.	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	-	315	150	51	84	-	310	37	-
Vers.2	10	292	102	38	66	18	132	20	22
Vers.3	-	47	399	18	82	25	110	-	23
Vers.4	1	247	352	-	199	123	356	-	5
Summe d. Versuche	11	901	1003	107	431	166	908	57	50

Zeichenerklärung siehe Seite 32

Tabelle 4: (Fortsetzung)
Ergebnisse der Differentialzählung der Granulopoese aller Versuche

Originalpräparate:

	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	14	131	226	39	148	128	409	25	-
Vers.2	15	168	143	19	188	54	575	22	41
Vers.3	22	101	211	-	255	79	585	8	85
Vers.4	14	126	369	-	209	225	211	-	20
Summe d. Versuche	65	526	949	58	800	386	1780	55	146

Kulturen mit Vitamin C + 400 R:

24 Std.	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	6	264	324	84	49	-	204	26	8
Vers.2	12	299	193	85	131	27	149	49	20
Vers.3	3	64	270	20	103	33	334	-	21
Vers.4	1	348	437	-	243	80	109	-	5
Summe d. Versuche	22	985	1224	189	526	140	796	75	54

48 Std.	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	2	254	345	75	132	19	269	40	5
Vers.2	3	367	156	72	79	38	304	26	5
Vers.3	-	48	236	12	112	12	490	-	48
Vers.4	2	288	193	-	248	44	265	-	-
Summe d. Versuche	7	957	930	159	571	113	1328	66	58

72 Std.	Mb	P	My	eMy	J	St	Se	eSe	Mz
Vers.1	5	302	755	81	306	30	60	22	10
Vers.2	8	212	148	106	122	44	454	26	20
Vers.3	-	22	228	12	94	8	92	-	13
Vers.4	4	334	106	-	450	44	420	-	6
Summe d. Versuche	17	870	1237	199	972	126	1026	48	49

Zeichenerklärung siehe Seite 32

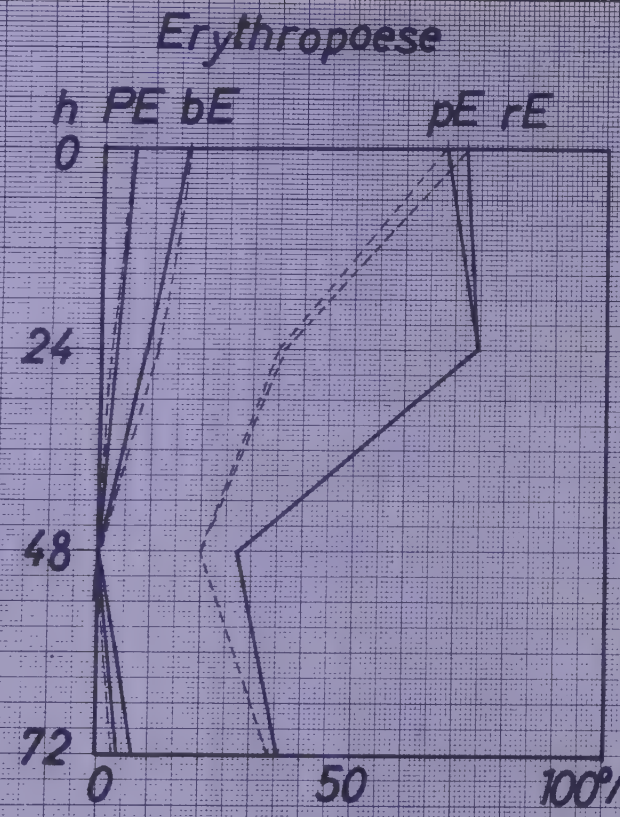


Abbildung E

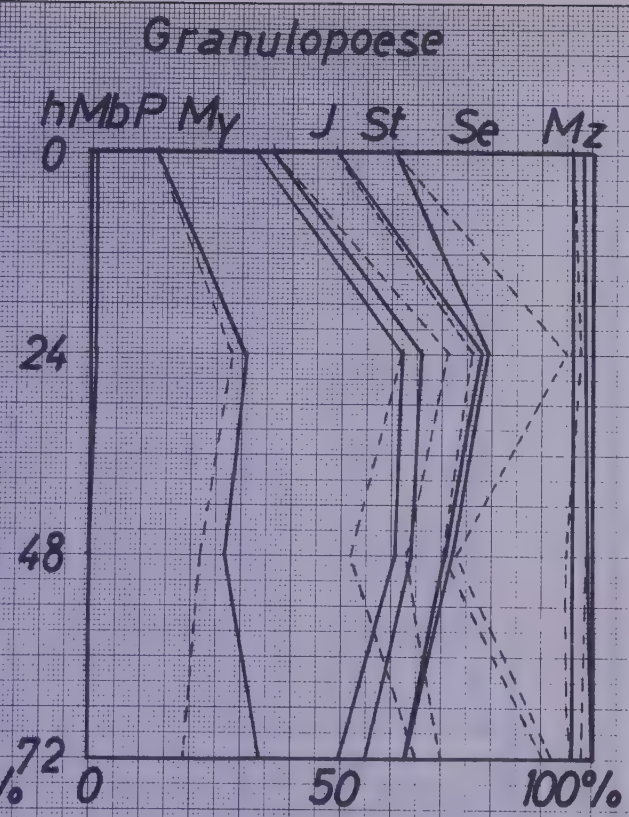


Abbildung F

Versuch 1

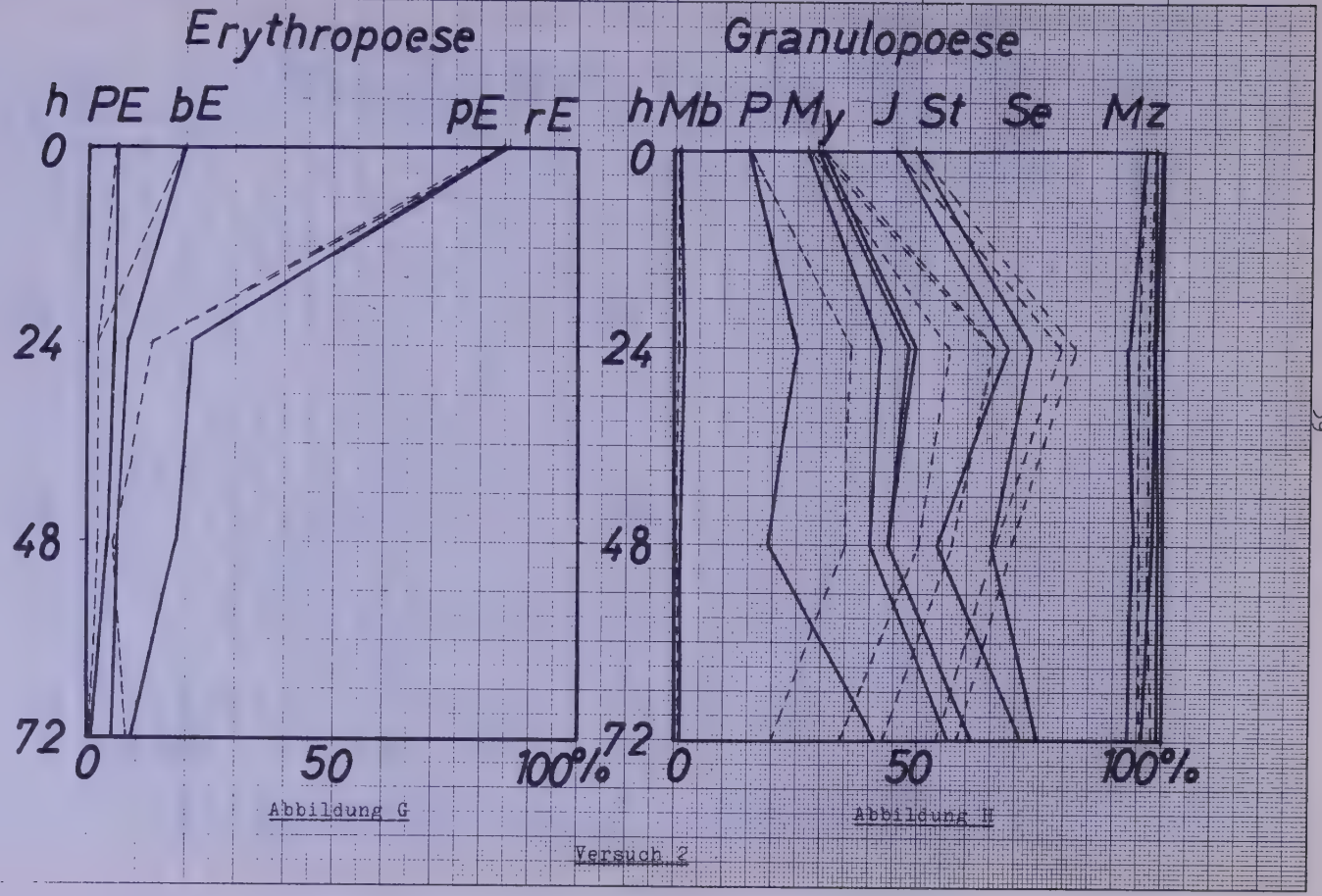


Abbildung G

Abbildung H

Versuch 2

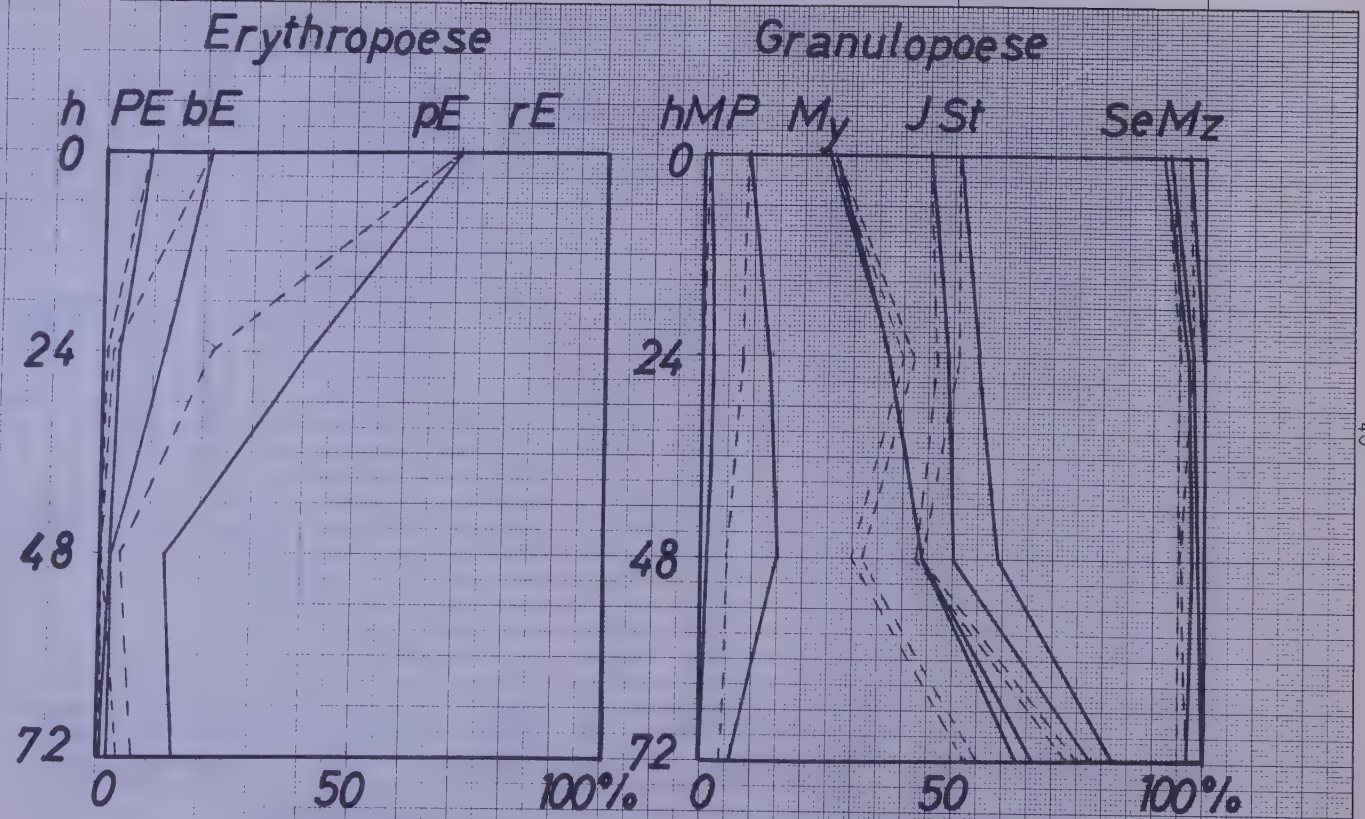


Abbildung I

Abbildung J

Versuch 3

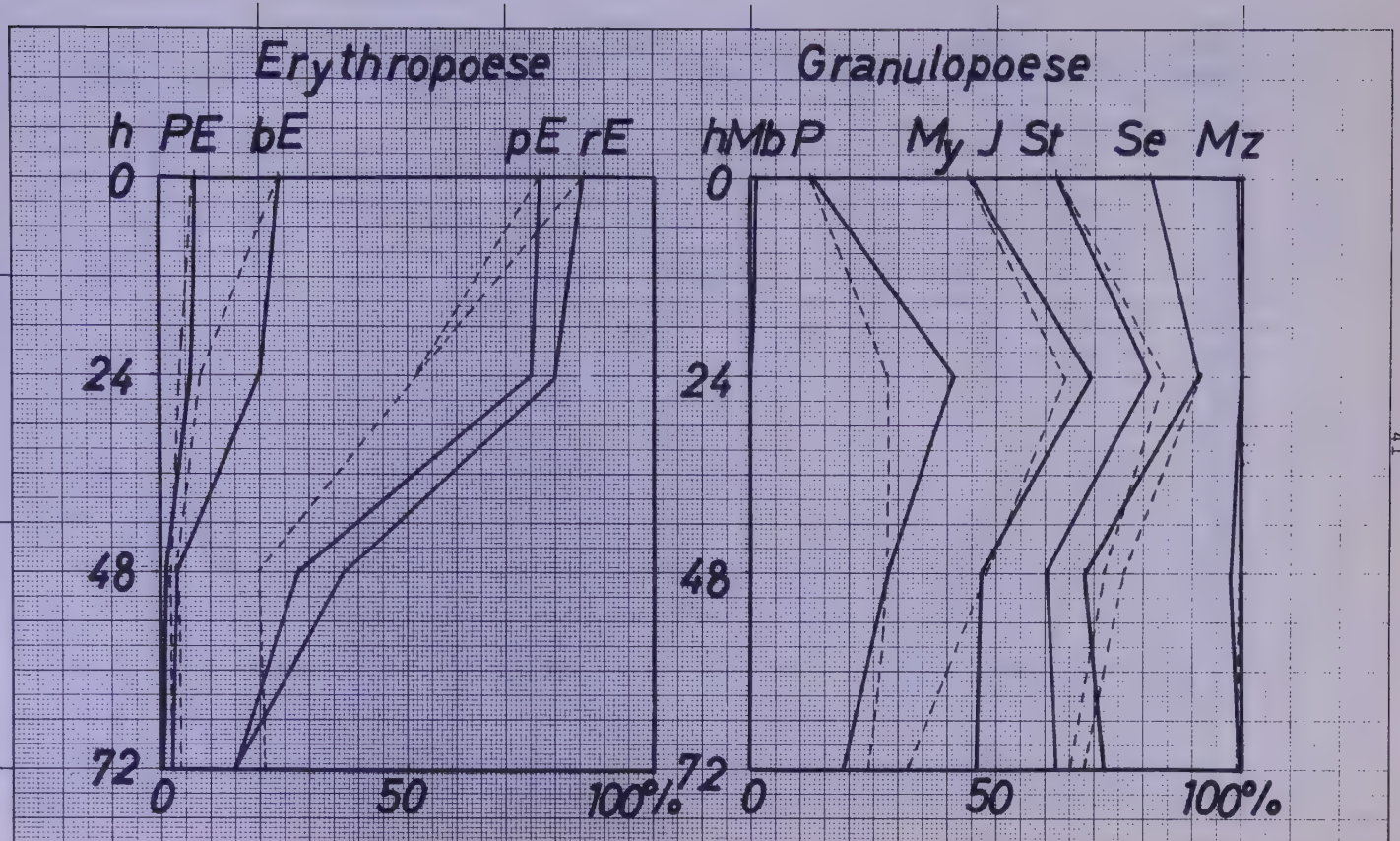


Abbildung K

Abbildung L

Versuch 4

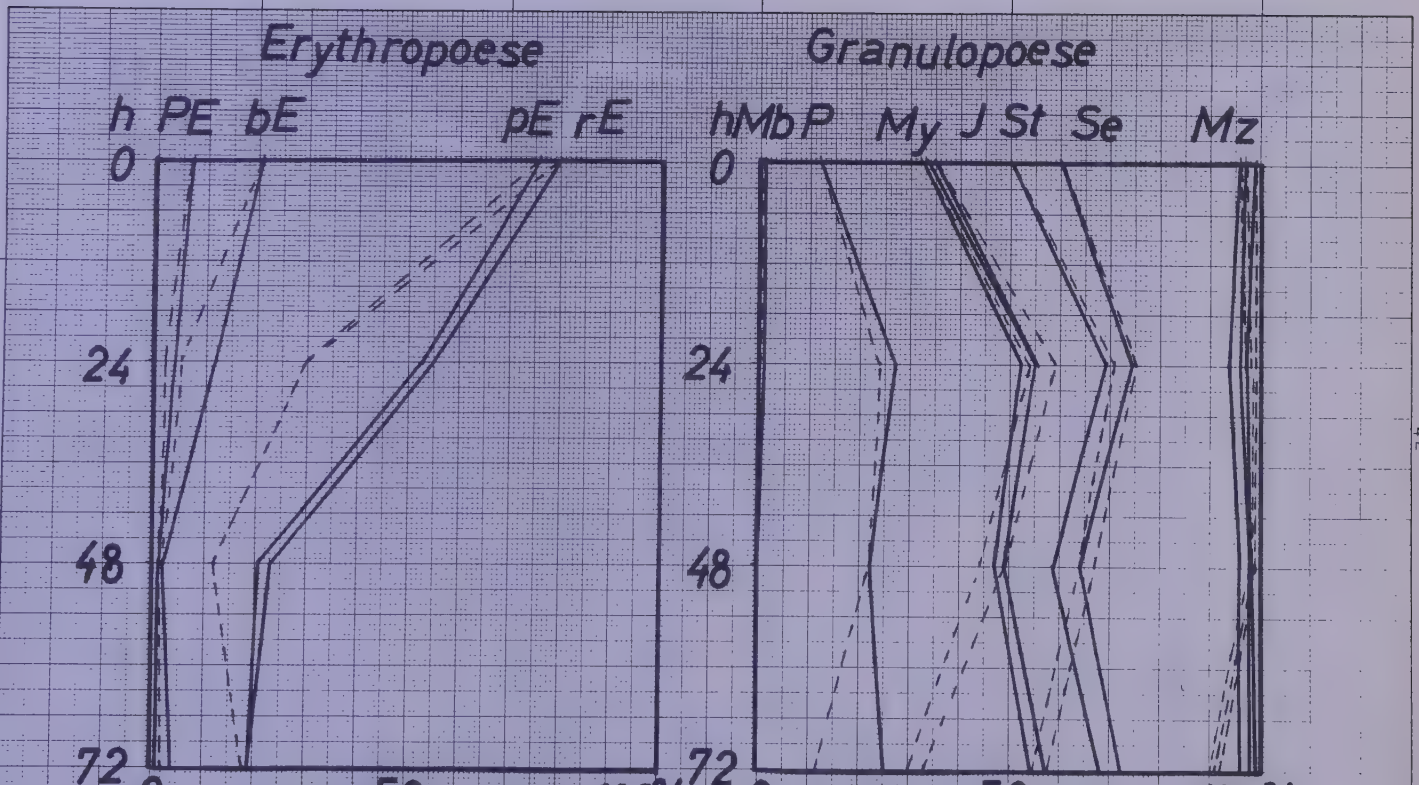


Abbildung M

Abbildung N

Mittelwerte

Signifikanzberechnung (Tabellen 5 - 7):

Die Signifikanzberechnung wurde für die Reifungskurven der Granulopoese und der Erythropoese getrennt durchgeführt. Als Berechnungsbeispiele galten die Erythropoese und die Granulopoese von Versuch 2 und Versuch 3, sowie die Erythropoese von Versuch 1.

Für die E r y t h r o p o e s e ist bei 3 Klassen und 2 Gruppen (2 Freiheitsgrade) die Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von α = 0,1 % bei einem $\chi^2 \geq$ 16,3 und bei α = 1 % bei einem $\chi^2 \geq$ 11,3 gegeben.

Für die G r a n u l o p o e s e bei 8 Klassen und 2 Gruppen sind die entsprechenden Werte:

$\geq$ 26,3 (α = 0,1 %)
$\geq$ 20,1 (α = 1 %)

Es stellen dar:

A = Zellzahlen der Kulturen mit Vitamin C

B = Zellzahlen der Kulturen mit Vitamin C + 4oo R

Erwartungswert von A : $E_{Ai} = \frac{n1}{n3} (A_i + B_i)$

Erwartungswert von B : $E_{Bi} = \frac{n2}{n3} (A_i + B_i)$

Für die Erythropoese gilt:

$$n_1 = \sum_{i=1}^{m} A_i \quad i \qquad n_2 = \sum_{i=1}^{m} B_i \quad i \qquad n_3 = \sum_{i=1}^{m} (A_i + B_i)$$

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{m} \frac{(Ai-E_{Ai})^2}{E_{Ai}} + \sum_{i=1}^{m} \frac{(Bi-E_{Bi})^2}{E_{Bi}}$$

m = 3 (Anzahl der Klassen)
FG = m - 1 = 2

Für die Granulopoese gilt:

$$n_1 = \sum_{i=1}^{m} A_i \qquad n_2 = \sum_{i=1}^{m} B_i \qquad n_3 = \sum_{i=1}^{m} (A_i + B_i)$$

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{m} \frac{(Ai-E_{Ai})^2}{E_{Ai}} + \sum_{i=1}^{m} \frac{(Bi-E_{Bi})^2}{E_{Bi}}$$

m = 8
FG = 7 (FG = 6, falls eine Klasse nicht berechnet ist)

Die p- Werte wurden den χ^2-Tafeln von H.J.BELITZ entnommen(7).

$p > 0{,}05$	: Die Differenz zwischen beiden Reihen ist zufallsbedingt.
$0{,}05 > p > 0{,}01$	: Die Zugehörigkeit beider Messreihen zur selben Grundgesamtheit ist zweifelhaft.
$0{,}01 > p > 0{,}0027$	: Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch einigermaßen gesichert.
$p < 0{,}0027$	: Die Differenz zwischen beiden Meßreihen ist statistisch gut gesichert.

Tabelle 5: (Signifikanzberechnung) Versuch 1 - Granulopoese

	A	B	A+B	EA	EB	$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$
t=24 Stunden							
Mb	7,0000	6,0000	13,0000	7,1805	5,8179	0,0045	0,0056
P	360,0000	264,0000	624,0000	344,7039	279,2941	0,6787	0,8375
My	368,0000	324,0000	692,0000	382,2681	309,7302	0,5325	0,6574
eMy	52,0000	84,0000	136,0000	75,1270	60,8712	7,1194	8,7880
J,St	153,0000	49,0000	202,0000	111,5871	90,4127	15,3693	18,9687
Se	210,0000	204,0000	414,0000	228,6982	185,3012	1,5287	1,8868
eSe	37,0000	26,0000	63,0000	34,8010	28,1973	0,1389	0,1712
MZ	4,0000	8,0000	12,0000	6,6279	5,3702	1,0419	1,2877
Summe	1191,0000	965,0000	2156,0000				
χ^2 = 59,01	p< 0,0027	Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert					
t= 48 Stunden							
Mb	1,0000	2,0000	3,0000	1,1659	1,8324	0,0236	0,0153
P	193,0000	254,0000	447,0000	173,8196	273,1793	2,1164	1,3465
My	239,0000	345,0000	587,0000	227,0935	356,9059	0,6242	0,3971
eMy	28,0000	75,0000	103,0000	40,0519	62,9466	3,6265	2,3080
J	51,0000	132,0000	183,0000	71,1610	111,8385	5,7119	3,6345
St	8,0000	19,0000	27,0000	10,4986	16,5000	0,5946	0,3787
Se	187,0000	269,0000	456,0000	177,3196	278,6801	0,5284	0,3362
eSe, MZ	19,0000	45,0000	64,0000	24,8865	39,1123	1,3923	0,8862
Summe	726,0000	1141,0000	1867,0000				
χ^2 = 23,92	p< 0,0027	Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert					
t=72 Stunden							
Mb,P	315,0000	307,0000	622,0000	233,9288	388,0699	28,0962	16,9359
My	150,0000	755,0000	905,0000	340,3631	564,6362	106,4690	64,1800
eMy	51,0000	81,0000	132,0000	49,6436	82,3549	0,0370	0,0222
J,St	84,0000	336,0000	420,0000	157,9586	262,0412	34,6285	20,8741
Se	310,0000	60,0000	370,0000	139,1540	230,8458	209,7554	126,4407
eSe,MZ	37,0000	32,0000	69,0000	25,9496	43,0485	4,7056	2,8356
Summe	947,0000	1571,0000	2518,0000				
χ^2 = 614,98	p< 0,0027	Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert					

Tabelle 6: (Signifikanzberechnung) Versuch 2 - Erythropoese

	A	B	A+B	EA	EB	$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$
t=24 Stunden							
PE	32,oo	14,oo	46,oo	21,o4	24,84	5,7o	4,73
bE	21,oo	3,oo	24,oo	10,98	12,98	9,o9	7,67
pE	79,oo	81,oo	160,oo	73,21	86,54	0,o6	0,35
rE	501,oo	648,oo	1149,oo	525,71	621,49	1,16	1,21
Summe	633,oo	746,oo	1379,oo				

χ^2 = 29,97 p < 0,oo27 Die Differenz zw.beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert

t=48 Stunden							
PE	19,oo	8,oo	27,oo	14,9o	12,o9	1,13	1,38
bE	19,oo	1,oo	20,oo	11,o4	8,96	5,75	7,o6
pE	73,oo	16,oo	89,oo	49,11	39,88	11,62	14,29
rE	522,oo	489,oo	1011,oo	557,oo	453,o3	2,31	2,85
Summe	633,oo	514,oo	1147,oo				

χ^2 = 46,39 p < 0,oo27 Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert

t=72 Stunden							
PE	4,oooo	6,oooo	10,oooo	4,1449	5,8547	0,oo5o	0,oo36
bE	24,oooo	30,oooo	54,oooo	22,3833	31,6164	0,1167	0,o826
rE,pE	292,oooo	416,oooo	708,oooo	293,4713	414,5282	0,oo73	0,oo52
Summe	320,oooo	452,oooo	772,oooo				

χ^2 = 0,22o6 p > 0,o5 Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist zufallsbedingt

Tabelle 6: (Fortsetzung) Versuch 2 - Granulopoese

	A	B	A+B	EA	EB	$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$
t=24 Stunden							
Mb	18	12	30	15,36	14,63	0,45	0,47
P	239	299	538	275,38	262,55	4,8o	5,o6
My	168	193	361	184,78	176,17	1,52	1,6o
eMy	65	85	150	76,88	73,2o	1,83	2,o3
J	190	131	321	164,31	156,65	4,o2	7,66
St	55	27	82	41,97	40,o1	4,o4	4,22
Se	207	149	356	182,22	173,73	3,36	3,51
eSe	47	49	96	49,14	46,85	0,o9	0,99
MZ	20	17	37	18,94	18,o6	0,o7	0,o6
Summe	1009	962	1971	1008,98	961,85	20,18	25,6o
	χ^2 = 45,78 p < 0,oo27 Die Diff,zwischen beiden Messreihen ist stat. gut gesichert						
t=48 Stunden							
Mb	12	3	15	8,26	6,73	1,69	2,o6
P	237	367	604	332,73	271,25	27,53	33,8o
My	274	156	43o	236,88	193,11	4,18	7,12
eMy	47	72	119	65,55	53,43	5,24	6,45
J	132	79	211	116,23	94,75	2,22	2,61
St	74	38	112	61,7o	50,29	2,45	3,oo
Se	445	304	749	412,61	336,36	2,54	31,11
eSe	52	26	78	42,97	35,o3	1,9o	2,32
MZ	15	5	20	11,o2	8,98	4,44	1,75
Summe	1288	1050	2338	1287,95	1049,93	52,19	90,22
	χ^2 = 142,41 p < 0,oo27 Die Diff.zw.beiden Messr. ist stat.gut gesichert						
t=72 Stunden							
Mb	10,oooo	8,oooo	18,oooo	6,8474	11,1514	1,4514	0,89o6
P	292,oooo	212,oooo	504,oooo	191,7391	312,26o8	52,4266	32,1917
My	102,oooo	148,oooo	250,oooo	95,1o83	154,89o6	0,4993	0,3o65
eMy	38,oooo	106,oooo	144,oooo	54,782o	89,2164	5,141o	3,1573
J	66,oooo	122,oooo	188,oooo	71,5211	116,4772	0,4262	0,2618
St	18,oooo	44,oooo	62,oooo	23,5865	38,4123	1,3231	0,8128
Se	132,oooo	454,oooo	586,oooo	222,9346	363,o649	37,o92o	22,776o
eSe	20,oooo	26,oooo	46,oooo	17,5ooo	28,5ooo	0,3571	0,2192
MZ	22,oooo	20,oooo	42,oooo	15,9782	26,o216	2,2694	1,3934
Summe	700,oooo	1140,oooo	1840,oooo				
	χ^2 = 162,99 p < 0,oo27 Die Diff.zw.beiden Messr. ist stat.gut gesichert						

Tabelle 7: (Signifikanzberechnung) Versuch 3 - Erythropoese

	A	B	A+B	EA	EB	$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$
t=24 Stunden							
rL	16,00	4,00	20,00	10,26	9,72	3,28	3,36
bL	45,00	6,00	51,00	26,15	24,79	13,58	14,23
oL	158,00	102,00	260,00	133,44	126,49	4,52	4,73
rE	318,00	397,00	715,00	367,04	347,90	7,35	7,44
Summe	537,00	509,00	1049,00				
	χ^2 = 58,49 p < 0,0027			Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert			
t=48 Stunden							
rL, bL	37,0000	22,0000	59,0000	20,7141	38,2854	12,8043	6,9273
rE	253,0000	514,0000	767,0000	269,2855	497,7140	0,9849	6,5329
Summe	290,0000	536,0000	826,0000				
	χ^2 = 21,24 p < 0,0027			Die Differenz zwischen beiden Messreihen ist statistisch gut gesichert			
t=72 Stunden							
rL, bL	8,0000	28,0000	36,0000	13,0410	22,9584	1,9486	1,1070
oL	65,0000	74,0000	139,0000	50,3535	4,2602	88,6462	2,4198
rE	428,0000	780,0000	1208,0000	437,6049	0,2108	770,3943	0,1197
Summe	501,0000	882,0000	13,83,0000				
	χ^2 = 10,06 0,01 > p > 0,0027			Die Differenz zwischen beiden Messr. ist stat.einigermaßen gesichert			

Tabelle 7: (Fortsetzung) Versuch 3 - Granulopoese

	A	B	A+B	EA	EB	$(A-E_A)^2/E_A$	$(B-E_B)^2/E_B$
t=24 Stunden							
Mb	21,0000	3,0000	24,0000	13,9196	10,0801	3,6014	4,9730
P	142,0000	64,0000	206,0000	119,4771	86,5214	4,2458	5,8623
My	268,0000	270,0000	538,0000	312,0340	225,9648	6,2140	8,5813
eMy	17,0000	20,0000	37,0000	21,4585	15,5396	0,9263	1,2802
J	190,0000	103,0000	293,0000	169,9366	123,0626	2,3687	3,2707
St	70,0000	33,0000	103,0000	59,7385	43,25	1,7626	2,4336
Se,eSe	440,0000	334,0000	774,0000	448,9122	325,0875	0,1769	0,2443
mZ	23,0000	21,0000	44,0000	25,5184	18,4796	0,2485	0,3437
Summe	1171,0000	848,0000	2019,0000				
t=48 Stunden	χ^2 = 46,53	p < 0,0027	Die Diff.zw.beiden Messreihen ist stat.gut gesichert				
Mb	145,0000	48,0000	193,0000	65,3935	62,2115	96,9083	3,2464
My	290,0000	236,0000	526,0000	178,2238	169,5516	70,1022	26,0415
eMy	3,0000	12,0000	15,0000	5,0823	4,8350	0,8531	10,6176
J	113,0000	112,0000	225,0000	76,2359	72,5263	17,7291	21,4841
St,eSe	51,0000	12,0000	63,0000	21,3453	20,3067	41,1984	3,3979
Se	399,0000	490,0000	889,0000	301,2188	286,5617	31,7415	144,4265
mZ	6,0000	48,0000	54,0000	18,2961	17,4059	8,2638	53,7747
Summe	1007,0000	958,0000	1965,0000				
t=72 Stunden	χ^2 = 529,78	p < 0,0027	Die Diff.zw.beiden Messreihen ist stat.gut gesichert				
Mb,P	47,0000	22,0000	69,0000	41,4113	27,5879	0,7542	1,1318
My	399,0000	228,0000	627,0000	376,3063	250,6926	1,3685	2,0541
eMy	18,0000	12,0000	30,0000	18,0048	0,001	11,9946	0,0002
J	82,0000	94,0000	176,0000	105,6295	70,3696	5,2859	7,9351
St	25,0000	8,0000	33,0000	19,8049	13,1939	1,3627	2,0446
Se,eSe	110,0000	92,0000	202,0000	121,2344	80,7655	1,0410	1,5627
mZ	23,0000	13,0000	36,0000	21,6057	0,0899	14,3936	0,1349
Summe	704,0000	469,0000	1173,0000				
	χ^2 = 24,76	p < 0,0027	Die Diff.zw.beiden Messreihen ist stat.gut gesichert				

Die G/E Indices (Tabelle 8) der bestrahlten Kulturen fielen bis zum 48-Stunden-Wert ab. Es folgte ein Anstieg der Indices erst nach 72 Stunden.

Auch bei den unbestrahlten Kulturen fand sich ein Anstieg der G/E Indices nach 72 Stunden Kulturdauer.

Zytologische Veränderungen:

Es kam zu einer Entmischung des Basischromatins im Zellkern. Es traten gehäuft Karyolysis und Karyorhexis auf. Die G r a n u l o p o e s e zeichnete sich durch vielgestaltige Anomalien sowohl des Kernes als auch des Zytoplasmas aus. Sie waren besonders zahlreich bei den Promyelozyten und den neutrophilen Myelozyten der bestrahlten Kulturen.

In der E r y t h r o p o e s e waren die Gänseblümchenformen zahlreich. Es wurde eine Tabelle (9) über die Gänseblümchenformen und die Vakuolenbildung bei den Promyelozyten und den neutrophilen Myelozyten aufgestellt.
Bei den Vakuolen wurde keine Unterscheidung in Bezug auf die Vakuolenhäufigkeit pro Zelle getroffen. Es wurde auch nicht in Vakuolen des Zellkerns und Vakuolen des Zytoplasmas differenziert.

Tabelle 8:

G/E Indices

	Orig. präp.	Vit.C+400 R 24h	48h	72h	Vitamin C 24h	48h	72h
Versuch 1	2	1,7	2,2	5,1	2,3	1,1	2,4
Versuch 2	2,5	1,3	2	2,5	1,6	2,2	2,2
Versuch 3	5,2	1,6	1,7	0,5	2,2	3,4	1,4
Versuch 4	1,7	4,3	2,9	4,2	4,2	3,7	6,7
Arithmetisches Mittel	2,8	2,2	2,2	3,1	2,5	2,6	3,2

Tabelle 9:

Gänseblümchen und vakuolisierte Zellen in %

	24 Std. A*	B* P	B* My	48 Std. A	B P	B My	72 Std. A	B P	B My
Versuch 1									
Vit.C	5	10	4	39	5	-	7	-	-
Vit.C+400 R	5	-	-	9	-	-	100	-	-
Versuch 2									
Vit.C	40	9	5	78	5	2	100	8	-
Vit.C+400 R	60	13	11	60	6	1	19	16	17
Versuch 3									
Vit.C	43	25	25	100	4	4	100	-	-
Vit.C+400 R	55	11	10	100	33	13	33	10	8
Versuch 4									
Vit.C	-	-	-	21	4	-	-	7	4
Vit.C+400 R	-	16	6	82	12	15	100	7	3
Arithm. Mittel									
Vit.C	22	11	8	60	4	1	51	4	1
Vit.C+400 R	30	10	7	63	13	7	63	8	7

* A = Gänseblümchen

* B = Vakuolen

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE des Vergleiches von schnellen Elektronen mit und ohne Ascorbinsäurezusatz

Nachfolgend werden unsere Ergebnisse zusammengefaßt und mit den Ergebnissen der Versuche mit schnellen Elektronen (CIARKOWSKI), nur mit Ascorbinsäure (SCHMIDT), sowie Photonen (HEINZE), als auch Photonen mit Ascorbinsäure (TAPPER) verglichen.

An denselben Knochenmarkproben wie Versuch 1 und 2 wurden von CIARKOWSKI Versuche mit schnellen Elektronen ohne Ascorbinsäurezusatz angestellt.
Andere Knochenmarkproben wurden mit 4oo R Photonen bestrahlt, teils mit - teils ohne Ascorbinsäure kultiviert und von HEINZE und TAPPER ausgewertet.
Eine fünfte Serie verglich die alleinige Wirkung von Ascorbinsäure auf Knochenmarkkulturen (SCHMIDT).

1. Regeneration:

a) Mitoseindices:

Bei der Betrachtung der Mitoseindices der E r y t h r o p o e s e (Tabelle 1, Abbildung B) fanden sich nur in zwei Versuchen (2,3) in den unbestrahlten nur mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen Mitoseindices nach 24 Stunden Kulturdauer. In den unbestrahlten 48-Stunden-Werten ließ sich nur in einem Versuch ein Mitoseindex errechnen. Sowohl in den unbestrahlten 72-Stunden-Präparaten als auch in sämtlichen bestrahlten Kulturen der roten Reihe fanden sich keine Mitosen.

Bei den nur mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen ohne Ascorbinsäurezusatz fand CIARKOWSKI eine Senkung der Mitoseindices bis zu 5o % gegenüber den unbestrahlten Kontrollen.

Bei der Photonenbestrahlung ohne Ascorbinsäurezusatz (HEINZE) wurden - entsprechend unseren Ergebnissen -

bei der bestrahlten Erythropoese keine Mitosen gefunden. Bei der Photonenbestrahlung mit Ascorbinsäurezusatz (TAPPER) wurde eine deutliche Verminderung der Mitosen in den nur mit Ascorbinsäure behandelten Kulturen festgestellt, zusätzliche Bestrahlung ließ die Mitosen weiter abfallen.

In den ausschließlich mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen (SCHMIDT) blieb der Mitoseindex der Erythropoese praktisch unverändert.

In der G r a n u l o p o e s e zeigte sich bei Ascorbinsäurezusatz in allen mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen nur kurzfristig nach 24 Stunden eine hochgradige Verminderung der Mitoseindices. In den 48-Stunden-Präparaten war der Mitoseindex bis über den Wert des Originals angestiegen (Tabelle 2, Abbildung A).
Der Mitoseindex unserer unbestrahlten Granulopoese war unter Ascorbinsäurezusatz bis 48 Stunden Kulturdauer gegenüber dem Ausgangswert praktisch unverändert. Erst nach 72 Stunden kam es zu einem Absinken des Mitoseindexes.
Ohne Ascorbinsäurezusatz lagen in der Granulopoese sämtliche Werte der mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen unter denen der Kontrollkulturen (CIARKOWSKI).

Auch bei Bestrahlung mit Photonen ohne Ascorbinsäurezusatz fanden sich in der Granulopoese viel niedrigere Mittelwerte der Mitoseindices in den bestrahlten Kulturen als in den Kontrollen (HEINZE).
Bei Bestrahlung mit Photonen unter Zusatz von Vitamin C fanden sich bei TAPPER Ergebnisse, die denen ohne Ascorbinsäure entsprachen.
Durch alleinigen Vitamin C-Zusatz (SCHMIDT) ergaben sich bei der Zusammenfassung aller untersuchten Mitoseindices keine deutlichen Veränderungen.

b) Karyologische Kurven:

Eine karyologische Kurve der E r y t h r o p o e s e war wegen der fehlenden Mitosen nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen und Vitamin C bei uns nicht zu ermitteln.

Bei mit schnellen Elektronen (CIARKOWSKI) bestrahlten Kulturen ohne Vitamin C-Zusatz fand sich eine Zunahme der frühen und späten Metaphasen.
Nach Bestrahlung mit Photonen (HEINZE) fanden sich in der roten Reihe keine Mitosen.
Bei der Bestrahlung mit Photonen und Zusatz von Ascorbinsäure (TAPPER) sowie bei Ascorbinsäure allein (SCHMIDT) konnten auf Grund der niedrigen Mitosezahlen keine graphischen Darstellungen angefertigt werden.

Die karyologische Kurve unserer unbestrahlten mit Ascorbinsäure behandelten Erythropoese verlief zweigipflig. Den ersten Gipfel bildete die späte Metaphase, die von dem die Rekonstruktionsphase bildenden zweiten Gipfel an Höhe übertroffen wurde (Abbildung C).

In der G r a n u l o p o e s e (Abbildung D) fanden sich bei uns keine Unterschiede der karyologischen Kurven zwischen den bestrahlten und unbestrahlten Kulturen. Späte Phasen waren in der Granulopoese sowohl in den bestrahlten als auch in den unbestrahlten Kulturen auffällig wenig vorhanden, entsprechend den Verteilungskurven von BOLL. Hier fanden sich Übereinstimmungen mit den Ergebnissen der Arbeit über die Wirkung der schnellen Elektronen allein (CIARKOWSKI) als auch bei den Arbeiten über die Wirkung von Photonen allein (HEINZE) und der Wirkung von Photonen und Ascorbinsäure (TAPPER). Die Arbeit über die Wirkung von Ascorbinsäure auf Knochenmarkkulturen (SCHMIDT) ergab keine Hemmung einer Mitosephase.

2. Reifung:

a) G/E Indices:

Die G/E Indices (Tabelle 8) fielen bei Ascorbinsäurezusatz nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen im 24-Stunden-Präparat ab. Es folgte ein Wiederanstieg nach 72 Stunden, der sowohl bei den bestrahlten als auch bei den unbestrahlten Kulturen relativ wenig über dem Ausgangswert lag. Das Verhalten entsprach dem unbeeinflusster Kulturen.

CIARKOWSKI notierte nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen ohne Zusatz von Ascorbinsäure ein starkes Absinken der G/E Indices bei den bestrahlten 24-Stunden-Werten. Später stiegen die Werte wieder etwas über die Kontrollen an. Dieses Ergebnis war bei uns abgeschwächt zu beobachten.
Derselbe Effekt wie mit schnellen Elektronen wurde durch die Photonenbestrahlung (HEINZE) erzielt. Bei den mit Photonen bestrahlten Kulturen, die zusätzlich mit Ascorbinsäure versetzt waren (TAPPER), ließen sich keine einheitlichen Veränderungen bei dem Vergleich der Kontrollen mit den bestrahlten Präparaten feststellen.
Dies traf auch für SCHMIDT zu, der bei den nur mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen keine einheitlichen Veränderungen erkennen konnte.

b) Reifungskurven:

Die Reifungskurven der Granulo- und Erythropoese verhielten sich bis zu einer Kulturdauer von 72 Stunden unterschiedlich.

In der E r y t h r o p o e s e (Abb. E, G, J, K, M, Tabelle 3) kam es in den bestrahlten Kulturen zu einer sehr starken Verringerung der unreifen Formen, die erst nach 48 Stunden nachließ. In den 72-Stunden-Präparaten erfolgte wieder eine - wenn auch nur geringfügige - re-

lative Vermehrung der unreifen Formen. Die unbestrahlten und mit Ascorbinsäure behandelten Kulturen der Erythropoese wiesen zwar auch eine konstante Verminderung der unreifen Formen bis zum 48-Stunden-Wert auf, die jedoch viel geringer war als bei den bestrahlten Kulturen. Die Prozentangaben der bestrahlten und unbestrahlten Kulturen der 72-Stunden-Präparate der Erythropoese stimmten fast genau überein.

In seinen mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen verzeichnete auch CIARKOWSKI bei der Erythropoese eine Verminderung der Proerythroblasten, basophilen Erythroblasten und polychromatischen Erythroblasten bis zum 48-Stunden-Wert gegenüber unbestrahlten, unbehandelten Kontrollen. Auch er fand nach 72-stündiger Kulturdauer wieder eine leichte Vermehrung der Proerythroblasten und polychromatischen Erythroblasten.

Bei den mit Photonen bestrahlten Kulturen fand HEINZE gegenüber den Kontrollen in 4 von 7 Fällen eine ausgeprägte Verminderung aller roten Vorstufen bei relativer Zunahme der reifen Erythroblasten.

Bei den mit Photonen bestrahlten und mit Vitamin C versetzten Kulturen (TAPPER) ließen die Reifungskurven der Erythropoese keine wesentlichen Unterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Kulturen erkennen.

Bei den nur mit Vitamin C behandelten Kulturen (SCHMIDT) ergab sich bei 1 mg % Vitamin C-Zusatz nach 48 Stunden und bei 3 mg % Vitamin C-Zusatz nach 24 und 48 Stunden wegen zu kleiner Zahlen nach dem χ^2-Test keine Signifikanz. SCHMIDT beendete seine Kulturdauer nach 48 Stunden - im Gegensatz zu CIARKOWSKI, HEINZE, TAPPER und uns, deren Kulturdauer 72 Stunden betrug.

Die mit schnellen Elektronen bestrahlten und mit Vitamin C versetzten Kulturen der G r a n u l o p o e s e

(Abb. F, J, L, N, Tabelle 4) wiesen in den 24-Stunden-Werten eine geringe Vermehrung der teilungsfähigen Zellen bis zu den eosinophilen Myelozyten auf. Entsprechend war eine Verminderung der Stab- und Segmentkernigen zu verzeichnen. Die 48-Stunden-Ergebnisse brachten das umgekehrte Resultat: eine Vermehrung der Stab- und Segmentkernigen hatte auf Kosten der unreifen Formen stattgefunden. Bis 48 Stunden verhielten sich bestrahlte und unbestrahlte Kulturen in der Tendenz einheitlich. Bei den 72-Stunden-Präparaten schritt bei den bestrahlten Kulturen die Reifung weiter fort, während bei den unbestrahlten Kulturen die unreifen Formen wieder zunahmen.
Bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen ohne Ascorbinsäurezusatz war in 3 von 5 Fällen die Ausreifung zu den Segmentkernigen besonders gehemmt. Hier trat dann eine entsprechende Vermehrung der Myelozyten auf.
Auch bei Bestrahlung mit Photonen fand sich in den bestrahlten 24-Stunden-Präparaten außer einer geringen aber meist signifikanten relativen Vermehrung der Myelozyten eine solche der Promyelozyten. Unter Ascorbinsäurezusatz zeigte die Photonenbestrahlung auch eine Vermehrung der Myelozyten nach 24 Stunden Kulturdauer.

Nur mit Vitamin C fand SCHMIDT die Promyelozyten gegenüber den Kontrollen nach 24 Stunden vermehrt und die Segmentkernigen vermindert. Diese Veränderungen waren stark signifikant und wurden als Stimulation aufgefasst.

Bei CIARKOWSKI, HEINZE, TAPPER, SCHMIDT und uns ergaben sich im 48-Stunden-Wert keine großen Veränderungen. Auch im 72-Stunden-Präparat behaupteten die Myelozyten in allen fünf Arbeiten den größten Anteil und bestimmten somit die Siginifikanz am stärksten. Bemerkenswert war jedoch die starke Zunahme der Segmentkernigen nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen und Vitamin C nach 72 Stunden Kulturdauer. Dieser Effekt trat bei Bestrahlung mit Photonen durch Ascorbinsäurezusatz nicht in Erscheinung.

3. Degenerative Veränderungen:

Nach der Bestrahlung traten mit Zunahme der Kulturdauer vermehrt undifferenzierbare Zellen auf. Bei den bestrahlten Kulturen waren die Gänseblümchenformen der Erythropoese ebenso wie die Vakuolen bei den Promyelozyten und Myelozyten vermehrt (Tabelle 9). Mehrkernige Zellen traten nicht vermehrt auf.

CIARKOWSKI fand zweikernige Zellen nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen hauptsächlich in der Erythropoese um das Zehnfache vermehrt. In der weißen Reihe berichtete er ebenfalls über gehäuftes Auftreten von Vakuolenbildungen in Kern und Plasma.

Bei den Arbeiten von HEINZE, TAPPER und SCHMIDT fanden sich keine näheren Hinweise auf Zellveränderungen.

DISKUSSION

Der Einfluß von schnellen Elektronen auf Knochenmark in vitro ist bisher nur von CIARKOWSKI (2o) beschrieben worden.

Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf menschliche Knochenmarkkulturen ist bisher von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN (15), TAPPER (72) und HEINZE (39) untersucht worden.

Erste Arbeiten über die Wirkung von Ascorbinsäure auf menschliche Knochenmarkkulturen liegen von SCHMIDT (58) und TAPPER (72) vor.

Untersuchungen über die Kombination von Ascorbinsäure und schnellen Elektronen und deren Einwirkungen auf das Knochenmark sind uns weder in vivo noch in vitro bekannt.

Hier sind nun die proliferativen Veränderungen von mit Vitamin C versetztem Knochenmark - nach teilweiser Applikation von 4oo R (35 MEV) schnellen Elektronen - im Verlauf einer 72-stündigen Kulturdauer erarbeitet worden.

Parameter der Proliferationsveränderungen waren

Mitoseindices,
Karyologische Kurven,
G/E Indices und
Reifungskurven.

Ziel dieser Arbeit sollte es sein, festzustellen, ob die oben angeführten Parameter stärker durch Röntgenstrahlen 4oo R (35 MEV) allein oder durch Bestrahlung mit schnellen Elektronen (4oo R, 35 MEV) verändert werden.
Weiterhin sollte geklärt werden, ob durch den Zusatz von Vitamin C (3 mg % Ascorbinsäure) die Proliferation des mit schnellen Elektronen bestrahlten Knochenmarks verbessert werden kann.

Es galt zu klären, ob mit 3 mg % Ascorbinsäure versetzte Kulturen sich nach Applikation von 4oo R schnellen Elektronen während einer 72-stündigen Kulturdauer anders verhalten als mit 3 mg % Ascorbinsäure versetzte Kulturen, die mit 4oo R Photonen bestrahlt wurden.
Vergleiche mit den Ergebnissen der Arbeiten von HEINZE, SCHMIDT, TAPPER und CIARKOWSKI wurden angestellt.

Der Kombination Vitamin C und 4oo R schnelle Elektronen wurde die Einwirkung von Vitamin C allein auf die Knochenmarkkulturen gegenübergestellt. Im ersten und zweiten Versuch wurde mit CIARKOWSKI an demselben Knochenmark jedoch mit unterschiedlichen Ergebnissen gearbeitet.

Mitoseindices:

Vergleicht man die Mitoseindices der fünf Arbeiten miteinander, so sind sie in der Tendenz einheitlich. Bei der E r y t h r o p o e s e (Tabelle 1) kam es zu einem Absinken der Mitoseindices im Verlaufe der Kulturdauer, die jedoch bei den fünf Arbeiten verschieden stark ausgeprägt waren. Auffällig war hier die Tatsache, daß mit Photonen bestrahlte Kulturen ohne Ascorbinsäurezusatz (HEINZE) keine Mitosen der roten Reihe mehr aufwiesen.
Die Erythropoese wies bei unseren mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen trotz Ascorbinsäurezusatz ebenfalls keine Mitosen auf.
Bei den nur mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen ohne Ascorbinsäurezusatz fand CIARKOWSKI eine Senkung der Mitoseindices bis zu 5o % gegenüber den Kontrollkulturen. Das entsprach den Ergebnissen von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN mit loo - looo R (2oo KV, 1 mm Cu-Filter, 1,45 mm CU HWS, 45 cm FHA).
Die Arbeiten von SCHMIDT und TAPPER zeigten während der Kulturdauer einen praktisch unveränderten bzw. geringgradig verminderten Mitoseindex der Erythropoese.

Ganz andere Ergebnisse zeigte die Betrachtung der Mitoseindices der G r a n u l o p o e s e (Tabelle 2). Nach 24 Stunden Kulturdauer kam es bei den bestrahlten Kulturen bei uns zu einem starken Abfall des Mitoseindexes. Er stieg nach 48 Stunden wieder an und lag nach 72 Stunden noch höher als ohne Bestrahlung. Die unterschiedliche Beeinflussung von menschlichem Knochenmark in vitro durch Photonen und Elektronen (BOLL, CIARKOWSKI, HEINZE) wurde auf dem Röntgenkongress in Düsseldorf näher erläutert.
In der Granulopoese war der Mitoseindex durch Photonenbestrahlung zu mehr als 5o % gegenüber den Kontrollkulturen reduziert. Durch Bestrahlung mit 4oo R schnellen Elektronen (35 MEV) waren die Mitosen zwar signifikant bis zu 72 Stunden reduziert - jedoch nicht so erheblich wie durch 35 MEV Photonen. Diese Ergebnisse gingen mit GÄRTNER (31) konform, die bei Hühnerfibroblastenkulturen eine 5o % geringere Senkung des Mitoseindexes erzielte, wenn sie an Stelle von 25o R Röntgenstrahlen (18o KV) mit 25o R schnellen Elektronen (15 MEV) bestrahlte. ASTALDI, MAURI und DiGUGLIELMO (1) konnten nach Anreicherung mit Colchicin schon bei Bestrahlung mit 5o R eine deutliche Verminderung der Mitosehäufigkeit beobachten. Bei den mit Photonen bestrahlten Kulturen wurde die Regeneration durch Zugabe von Ascorbinsäure verbessert, jedoch nicht so stark wie in unserer Versuchsreihe.

Karyologische Kurven (Abb. C,D):

Unsere Ergebnisse bei der Erythropoese: Die Vermehrung der Rekonstruktionsphase ohne Bestrahlung muss wohl als Zufallsbefund gewertet werden. Sie entsprach der von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN (15), die in bestrahlten Kulturen vorwiegend Endphasen fanden.
Mit HEINZE und CIARKOWSKI kamen wir zu dem Schluß, daß man aus den karyologischen Kurven bei der geringen Zahl der Mitosen keine Änderung des Mitoseablaufes entnehmen konnte.

Eine Mitosearretierung ließ sich auch bei Ascorbinsäure allein (SCHMIDT) nicht nachweisen.

Bei den Granuloblasten zeigte sich bei uns in Übereinstimmung mit CIARKOWSKI eine Abnahme der Prophase zugunsten der späten Metaphase sowie eine auffallend geringe Zahl später Phasen. HEINZE hingegen konnte nach Bestrahlung mit ultraharten Bremsstrahlen keine Hemmung einer speziellen Mitosephase feststellen.

G/E Indices (Tabelle 8):

Bei uns trat ein geringes Absinken des G/E Indexes nach Bestrahlung ein. Die unbestrahlten Kulturen zeigten einen leichten Anstieg des G/E Indexes bis zu 72 Stunden Kulturdauer. Hier scheint der letale Effekt auf die Granuloblasten durch Ascorbinsäure abgeschwächt, denn nach Bestrahlung mit schnellen Elektronen bemerkte CIARKOWSKI ein erheblicheres Absinken des G/E Indexes nach 24 Stunden. Er notierte einen späteren Anstieg des G/E Indexes, was er als verspätet einsetzende Reifung der Erythropoese deutete.
Photonenbestrahlung ohne Zusatz von Ascorbinsäure zeigte keine einheitlichen Veränderungen des G/E Indexes (HEINZE). Nach 72 Stunden Kulturdauer waren die Erythroblasten in den bestrahlten Kulturen stärker reduziert als in den Kontrollen.
TAPPER's Vergleiche zwischen Photonen bestrahlten und unbestrahlten Präparaten, die mit Vitamin C versetzt waren, sowohl innerhalb der gleichen Zeitabstände, als auch über die verschiedene Kulturdauer hinaus, ließen keine einheitliche Tendenz erkennen.
Ascorbinsäure allein brachte ebenfalls keine einheitlichen Veränderungen des G/E Indexes hervor (SCHMIDT).

Reifungskurven (Abbildungen E - N):

Die Reifungskurven der E r y t h r o p o e s e bei den mit schnellen Elektronen bestrahlten und mit Ascorbin-

säure versetzten Kulturen zeigten nach 24 und 48 Stunden eine signifikant stärkere Reifungsbeschleunigung als mit Ascorbinsäure allein. Die völlig fehlenden Mitosen der bestrahlten Erythropoese hatten keinen Einfluß im Sinne einer verzögerten Reifung. Es schien hier zu einer Reifung ohne Mitosen gekommen zu sein, oder die unreifen Zellen waren letal bestrahlt. Es müsste dann aber der G/E Index angestiegen sein, was hier nicht vorlag. Es handelte sich also um eine zusätzliche Entkernungshemmung. Dies entsprach den Beobachtungen von SEYDERHEIM und GREBE (6o). Der Anstieg des G/E Indexes nach 72 Stunden sprach für eine verspätete Reifung zu Erythrozyten.
Nach BOLL (12) gliedert sich die Reifung zweckmäßigerweise in eine Reifung während der Regenerationsphase und in die Reifung nach der letzten Mitose. Nur die erstere wäre durch schnelle Elektronen zu beeinflussen. Trotz des Fehlens von Mitosen der bestrahlten roten Reihe kam es nach 24 und 48 Stunden nicht zu einer Reifungsverzögerung. Sie war geringer als ohne Vitamin C.
Bei den nur mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen (CIARKOWSKI) fand sich im Gegensatz zum Ascorbinsäurezusatz in der Summenkurve aller Fälle besonders nach 48 Stunden eine deutliche Hemmung der Reifung. Der besondere Effekt der Elektronenbestrahlung auf die Knochenmarkkulturen, der sich bei CIARKOWSKI in einer verzögerten Reifung und bei GÄRTNER in einem ausgeprägteren nekrobiotischen Effekt äußerte, wurde also durch Zugabe von Ascorbinsäure zu den Knochenmarkkulturen gemildert.

Vergleicht man dazu die Ergebnisse der mit 4oo R Photonen bestrahlten Kulturen (HEINZE), so fand man sowohl nach 24 als auch nach 48 Stunden Kulturdauer wie bei uns eine signifikante Dezimierung der unreifen Formen, während die reifen Erythroblasten relativ vermehrt waren.
Die mit Photonen bestrahlten und mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen (TAPPER) zeigten eine nahezu kontinuierliche

Dezimierung sowohl der Vorstufen als auch der reifen Erythroblasten nach Bestrahlung.
In den nur mit Vitamin C versetzten Kulturen kam es zur Reifungsbeschleunigung der roten Reihe ohne Regenerationsvermehrung (SCHMIDT).

In der G r a n u l o p o e s e ergab sich bis 24 Stunden Kulturdauer nach Bestrahlung und Vitamin C-Zugabe keine Hemmung der Reifung. Von 48 bis 72 Stunden Kulturdauer trat dann eine konstante Reifung der bestrahlten Kulturen ein. Die Mittelwertkurve der bestrahlten Granulopoese glich also derjenigen der normalen Granulopoese bei BOLL (13). Sie führte die Vermehrung der jugendlichen Zellformen der weißen Reihe nach 24 Stunden in vitro auf eine Stimulation durch die Kulturbedingungen und auf eine kurze Lebensdauer der Segmentkernigen zurück.
Nach 48 bis 72 Stunden in vitro überwiege die Reifung.
Auch wir stellten fest, daß nach 24 Stunden in vitro trotz Rückgang des Mitoseindexes vermehrt jugendliche Zellformen auftraten. Nach 48 Stunden in vitro fanden wir einen starken Anstieg des Mitoseindexes, d.h., der Regeneration, bei Zunahme der reifen Zellformen. Durch Zugabe von Ascorbinsäure kam es bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen (4oo R) also zu einer Reifungszunahme nach 72 Stunden.
Bei den unbestrahlten Kulturen zeigte sich bei Ascorbinsäurezusatz bis zu 4o Stunden Kulturdauer eine konstante Zunahme der Reifung. Nach 72 Stunden zeigte sich dann jedoch wieder ein leichter Anstieg der unreifen Formen. Dies bedeutete eine Reifungsstimulierung nach 72 Stunden Kulturdauer durch Ascorbinsäure.
CIARKOWSKI, dessen Kulturen nur mit schnellen Elektronen, 4oo R, d.h. ohne Zugabe von Vitamin C bestrahlt wurden, stellte hingegen eine Reifungshemmung der bestrahlten Granulopoese fest.
Vergleichsweise kam es bei der Bestrahlung mit 4oo R Pho-

tonen bei HEINZE in der Granulopoese erst nach 72 Stunden zu einer Reifungshemmung.
TAPPER stellte bei seinen mit Photonen bestrahlten und mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen hingegen nach 24 Stunden eine Reifungsverlangsamung fest. Nach 72 Stunden in vitro bestimmten die Myelozyten am stärksten die Signifikanz des χ^2-Wertes.
In den nur mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen der Granulopoese fand sich bei SCHMIDT nach 24 Stunden eine Vermehrung der Promyelozyten und Myelozyten gegenüber den Kontrollen, die mit einer entsprechenden Verminderung der neutrophilen segmentkernigen Granulozyten einherging. Diese Tendenz war bis zum Ende der Kulturdauer nach 48 Stunden weiterhin vorhanden.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Klärung der Frage, ob die Kombination von Ascorbinsäure und schnellen Elektronen einen anderen Einfluß auf die Proliferation menschlichen Knochenmarks in vitro habe, als der alleinige Einfluß von schnellen Elektronen auf das Knochenmark (CIARKOWSKI), wurde mit 3 mg % Vitamin C versetztes menschliches Knochenmark zum Teil mit 4oo R (35 MEV) schnellen Elektronen in vitro bestrahlt. Bis zu einer Kulturdauer von 72 Stunden wurden die mit Ascorbinsäure versetzten und bestrahlten Kulturen im Vergleich zu nur mit Vitamin C versetzten Kulturen ausgezählt. Der Mitoseindex und der G/E Index wurden aus den Differentialzählungen der Kulturen errechnet, sowie Reifungskurven und karyologische Kurven angefertigt. In 2 von 5 Fällen wurde dasselbe Knochenmark benutzt, das auch CIARKOWSKI für seine Versuche verwendete.
An Hand der oben angeführten Parameter wurden darüber hinaus Vergleiche über Kulturen, die nur mit Ascorbinsäure versetzt waren, angestellt (SCHMIDT). Weiterhin wurde die Frage diskutiert, ob mit Photonen (4oo R, 33 MEV) bestrahlte Knochenmarkkulturen (HEINZE) sowie mit Photonen bestrahlte und mit Ascorbinsäure versetzte Kulturen (TAPPER) andere Ergebnisse zeigten als mit schnellen Elektronen bestrahlte Knochenmarkkulturen.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigte, daß in den mit 4oo R schnellen Elektronen bestrahlten und mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen bei der E r y t h r o p o e s e keine Mitosen zu finden waren. Gleichzeitig war die Reifung beschleunigt. Folgt man dem G/E Index, lag nach 72 Stunden Kulturdauer eine Entkernungshemmung vor. Bei nur mit schnellen Elektronen bestrahlten Kulturen kam es im Gegensatz dazu nach dem G/E Index zu einer Reifungshemmung. Unsere Ergebnisse stimmten mit den Resultaten von HEINZE überein, der auch keine zwangsläufige Korrelation zwischen

Reifung und Regeneration bestätigen konnte. Ascorbinsäure hat also auf die Regenerationsverminderung der Erythropoese durch 4oo R schnelle Elektronen keinen Effekt. Es kommt jedoch zu einer Reifungszunahme durch Vitamin C.

Bei der G r a n u l o p o e s e zeigten die mit schnellen Elektronen bestrahlten und mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen im 48- und 72-Stunden-Präparat eine fortschreitende Reifung wie bei der normalen Granulopoese (BOLL). Der Mitoseindex der bestrahlten Zellen war nur nach 24 Stunden erniedrigt. Der Mitoseindex der nur mit Ascorbinsäure versetzten Kulturen der Granulopoese war bis auf eine Erniedrigung nach 24 Stunden auch noch nach 72 Stunden fast unverändert hoch. Durch 4oo R Photonen wurde im Gegensatz dazu in der Granulopoese der Mitoseindex unter die Hälfte der Kontrollkulturen reduziert.

Die bei CIARKOWSKI nach Bestrahlung mit 4oo R schnellen Elektronen beobachtete Hemmung der Reifung in der Granulopoese scheint danach durch Ascorbinsäure verhindert zu werden. Vitamin C hat also auf mit Elektronen bestrahlte Knochenmarkkulturen einen besseren Effekt als auf mit Photonen bestrahlte Knochenmarkkulturen.

Die Betrachtung der Mitosephasen ergab keine Hemmung einer Phase bei beiden Strahlenarten.

In den bestrahlten Kulturen traten vermehrt nekrobiotische Zellformen - Vakuolen und Gänseblümchenformen - auf. Der gegenüber den Photonen verstärkte nekrobiotische Effekt der schnellen Elektronen wird durch Ascorbinsäure offensichtlich gemindert.

- - - - - -

LITERATURVERZEICHNIS

1. ASTALDI,G., MAURI,C., DiGUGLIELMO,C.: L'effecto dei raggi roentgen sul' attività proliferativa degli eritroblasti Studiato sul midollo osseo umano in cultura Haematol.34,529 (195o)

2. BACQU,Z.M., ALEXANDER,P.: Grundlagen der Strahlenbiologie Monographie, S.276 Georg-Thieme-Verlag (1958)

3. BARBIER,H.: Vitamin C und Blut unter besonderer Berücksichtigung der Retikulozyten und des weißen Blutbildes Klin.Wschr.928/932 Bd. 17 (1938)

4. BARTLEY,W., KREBS,H.A., O'BRIEN,J.R.P.: Vitamin C requirement of human adults Spec.Rep.Ser.med.Res.Counc.(London) Nr.28o,4o (1953)

5. BAUER,R.: Untersuchungen über die Einwirkung unterschiedlich verabfolgter Röntgenstrahlen auf das Knochenmark und seine Zellelemente, zugleich ein Beitrag zum Zeitfaktorproblem Strahlentherapie 67,424 (194o)

6. BECKER,J., FLIEDNER,T.M.: Voraussetzungen und Möglichkeiten der Therapie von Strahlenschäden Med.Klinik 34,1456 (1957)

7. BELITZ,H.J.: Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie Sonderdruck aus: Der Mathematikunterricht, Heft 3/6o, Ernst Klatt Verlag, Stuttgart

8. BERNARD,J.: Transfusion and grafts of bone marrow, Current status Progr.Med. (Paris) 88,3o7 (196o)

9. BERTHELMESS,A., FÜRST,H., HUBER,H.: Nahrungsbestandteile als natürliche Schutzstoffe gegen röntgeninduzierte Chromosomenschäden Die Naturwissenschaften 7,16o (1965)

10. BIRKNER,R., SUCHOWSKY,G., TRAUTMANN,J.: Histochemische und histometrische Untersuchungen an Nebennierenrinden von weißen Ratten nach verschieden dosierten Röntgen-Ganzbestrahlungen
Strahlentherapie 94,506 (1954) und 95,407 (1954)

11. BÖGER,A., MARTIN,W.: Vitamin C und Blut
Münchn.Med.Wschr. I 899 (1955)

12. BOLL,I.: Granulozytopoese unter normalen und pathologischen Bedingungen
Springer Verlag (1966)

13. BOLL,I.: Weitere Untersuchungen auf die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Knochenmarkkulturen in vitro
Haemat.Lat. 1,171 (1958)

14. BOLL,I.: Leitfaden der zytologischen Knochenmarkdiagnostik
Lehmann Verlag München (1975)

15. BOLL,I., KOPPE,M., SCHAAF,J., TRAUTMANN,J.: Quantitative und qualitative Veränderungen an röntgenbestrahlten Knochenmarkkulturen
Strahlentherapie 100, 3,445 (1956)

16. BOLL,I., FUCHS,G.: Vereinfachtes Verfahren zu kurzfristiger Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro
Blut VII, 257 (1961)

17. BOLL,I., FUCHS,G.: Unterschiedliche Strahlenwirkung auf die Erythro- und Leukopoese in vitro
Verhandlungen des 7.Kongr.d.Europ. Ges.f.Haematologie, Wien (1961)

18. BOND,V.P., FLIEDNER,T.M.: Effects of the total body irradiation on the marrow structure of dogs
Experimentelle und klinische Strahlenhaematologie
Monographie, F. Lehmann Verlag (1962)

19. BRUCER,M.: The acute radiation Syndrome. A medical report of the γ-19 accident one June 16,1958, Oak Ridge Inst.of Nucl.Studies, Orins US (1959)

2o. CIARKOWSKI,J.: Die Einwirkung von 4oo R schnellen Elektronen (Betatron,35 MEV) auf menschliches Knochenmark in vitro Inaugural-Dissertation, Berlin 1971

21. CONRAD,R.H., CRONKITE,E.P., BRECHER,G., STROME,C.P.A.: Experimental therapy of the gastrointestinal syndrome, produced by lethal dosis of ionizing radiation J. Applied Physiol. 9,227 (1956)

22. CRONKITE,E.P., BOND,V.P., DUNHAM,C.L.: Some effects of ionizing radiation in human beings TID Report No.5358 US Govt.Print. Offices, Washington D.C. (1956)

23. CRONKITE,E.P., BOND,V.P.: Radiation Injury in Man. Its chemical and biological basis, pathogenesis and therapy Charles C.Thomas,Publisher, Springfield III (196o)

24. DOLGOVA,Z.Ya.: Der Gehalt an Ascorbinsäure in den Organen von Meerschweinchen bei einmaliger Röntgenbestrahlung (Dtsch.Übers.des Titels:Frau Dr.med. Müller-Dietz) Voprosy medicinskoj chimii,Moskva Gos. Izd. Medic. Literatury

25. ERNST,H., SCHEFFLER,A.: Strahlen contra Krebs Kurz und Gut 4,6 (197o)

26. EULER,V.H., MALMBERG,M.: Einfluß der Eingaben von Ascorbinsäure und Vitamin P (Citrin) auf den Gehalt des Meerschweinchenblutes an vitalfärbbaren Erythrozyten Hoppe-Seyler's Zeitschr.f.physiolog. Chemie 249,85 (1937), 252,24 (1938), 256,243 (1938)

27. FERREBEE,J.W., THOMAS,A.E.D.: Transplantation of marrow in Man Arch.Int.Med. 1o6,523 (196o)

28. FLIEDNER,Th.M., STODTMEISTER,R.: Experimentelle und klinische Strahlenhämatologie J.F.Lehmann's Verlag München (1962)

29. FLIEDNER,Th.M., BOND,V.P., CRONKITE,E.P.: Structural and autoradiographic (H^3-thymidine) changes in bone marrow following total-body irradiation Amer.J.Path. 38,599 (1961)

3o. GAUBATZ,E., DEBOBEN,W.: Retikulozytenforschung und Behandlung der toxischen Durchfälle bei Tuberkulose
Klin.Wschr.S 1148(1937) Bd. 16,2.Halbj.

31. GÄRTNER,H.: Betatron und Kobalttherapie
Springer Verlag (1958)

32. GERSTNER,H.B.: Military and civil defense aspects of the acute radiation syndrome in man,
US Air Force School of Aviation, Aviation Medicine, Randolph Field Texas, Report 58,66 (1957)

33. GRAB.W.: Pharmakodynamische Wirkungen der Ascorbinsäure in wissenschaftlichen Veröffentlichungen der Dt.Ges.f. Ernährung, 14,136 "Ascorbinsäure" Dr.Dietrich Steinkopf Verlag, Darmstadt (1965)

34. GROLLMANN,A.P., LEHNINGER,A.L.: Enzymatic Synthesis of L-Ascorbic Acid in Different Animal Species
Arch.Biochem.Biophys. 69,458 (1957)

35. HAGEN,P.: The Distribution of Ascorbic Acid between the Particulate and Non-particulate components of Adrenal- and Liver cells
Biochem.J. 56,44 (1954)

36. HARTWEG,H.: Die Wirkungen geschützten homologen Knochenmarkes auf die Regeneration des hämatopoetischen Systems nach dem Strahleninsult
Strahlentherapie 95,594 (1954)

37. HARTWEG,H.: Strahlenpathologie der Zelle
Kapitel: Strahlenwirkung auf Zellen lebenswichtiger Organe
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1963)

38. HEILMEYER,L.: Altes und Neues vom Eisenstoffwechsel
Münchn.Med.Wschr.1o7,8o5 (1965)

39. HEINZE,D.: Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Proliferation des Knochenmarks in vitro (4oo Rad, 33 MEV, Photonen)
Inaugural-Dissertation, Berlin, (197o)

40. HERBERT,R.W., HIRST,E.L., PERCIVAL,E.G.V., REYNOLDS,R.J.W., SMITH,F.: J.chem.Soc.1933,127o
Zitiert nach wissenschaftlichen Veröffentlichungen der Deutschen Ges. f.Ernährung, Band 14, "Ascorbinsäure" (1964)
Dr.Dietrich Steinkopf Verlag
Darmstadt (1965)

41. JENNINGS,G.H., GLAZERBROOJ,A.J.: A Comparison of Clinical and Blood Pictures in adult scurvy
Brit.Med.J. London,

42. JUUL,J., KEMP,T.: Über den Einfluß von Radium- und Röntgenstrahlen, ultravioletten Licht und Hitze auf die Zellteilung bei warmblütigen Tieren
Studien an Gewebekulturen
Strahlentherapie 48,457 (1933)

43. KOPPE,M.: Die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf menschliches Knochenmark in vitro
Inaugural-Dissertation, Berlin (1955)

44. LIEBOW,A.A., WARREN,S., DeCOURSEY,A.E.: Pathology of Atomic Bomb Casualties
Amer.J.Path. 25,853 (1949)

45. MARTIN,M.P., BRIDGFORTH ,E., McGANITY,W.J., DARBY,W.J.: The Vanderbilt Cooperative Study of Maternal and Infant Nutrition
X Ascorbic Acid
Journal of Nutrition 62,2o1 (1957)

46. NEANDER,G.: The Effect of Vitamin C on the number granulocytes in the blood
Acta Med.scand. 1o9,453 (1942)

47. PATTERSON,L.W., MASTIN,D.W.: Some Effects of Dehydroascorbic Acid on the Central Nervous System
Amer.J.Physiol., 167,119 (1951)

48. PAXTON,H.C., BAKER,R.D., MARAMAN,W.J., REIDER,A.R.: Nuclear critical accident at the Los Alamos Scientific Laboratory on Dec.3o,1958
LAMS 2293,Los Alamos,N.M. (1959)

49. PERTHES,G.: Versuche über den Einfluß von Röntgenstrahlen und der Radiumstrahlen auf die Zellteilung
Dt.med.Wschr. 12,25 (19o4)

5o. PETRAKIS,L.N.: In vivo Cultivation of Leucocytes in Diffusion Chambers Requirement of Ascorbic Acid for Differentiation of Mononuclear Leucocytes to Fibroblasts
Blood 3,31o Sept. (1961)

51. PILIERO,S.J., GORDON,A.S.: The Relation of Ascorbic Acid and the Adrenal to Blood Formation
Acta Haemat. 11,114 (1954)

52. POLITZER,G.: Pathologie der Mitose
Monographie
Verl. Gebr. Bornträger, Berlin (1934)

53. PROEHL,E.C., MAY,C.D.: Experimental nutritional Megaloblastic Anemia and Scurvy in the monkey
Blood, 7,671 (1952)

54. RACHMILEWITZ,M., ROSIN,A., GOLDHABER,G., DOJANSKI,L.: The Effect of x-rays on the mitotic activity of explanted bone marrow
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 59,129 (1945)

55. REICHSTEIN,T., GRÜSSNER,A., OPPENAUER,R.: Helv.chim.Acta 16,1o19 (1933) zitiert nach wissenschaftlichen Veröffentlichungen der Dt.Ges.f.Ernährung,Band 14 "Ascorbinsäure" (1964) Dr.Dietrich Steinkopff Verlag Darmstadt (1965)

56. ROY,R.N., GUHA,B.C.: Species Difference in regard to the Biosynthesis of Ascorbic Acid
Nature 182,319 (1958)

57. SCHERER,E., STEPHAN,H.S.: Strahlenpathologie der Zelle
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1963)

58. SCHMIDT,N.L.: Die Wirkung der Ascorbinsäure auf die Proliferation von Knochenmark in Kulturen
Inaugural-Dissertation,Berlin (1967)

59. SCHNETZ,H.: Vitamin C und Leukozytenzahl
Klin.Wschr. 17,267 (1938)

6o. SEYDERHEIM und GREBE zit.n.MÜLLER,A.H.: Über die Beziehungen zwischen einigen Vitaminen und der Zellzusammensetzung des Blutes
Z.ges.Inn.Med. 284 (1947)

61. SKULME,K.A., PRANIS,L.J.: Vitaminnye Resursy i ich Ispol'zovanie
Vitamine und ihre Ausnutzung
Akademija Nauk SSSR, Institut Biochimii im A.N.Bacha, Moskva Akad. 5/61

62. SZENT-GYÖRGYI,A.: Observations on the Function of Peroxidase Systems and the Chemstry of the Adrenal Cortex
Biochem.J. 22,1387 (1928)

63. SZENT-GYÖRGYI,A., HAWORTH,W.N.: Nature (London) 131,24 (1933)
zit.nach wissenschaftlichen Veröffentlichungen der Deutschen Ges.f.Ernährung, Band 14, "Ascorbinsäure" (1964), Dr.Dietrich Steinkopff Verl. Darmstadt (1965)

64. STEPANOVA,M.M., IVANOV,J.J.: The Metabolism of Vitamin C and Aromatic Amino Acids in Radiation Sickness,Chair of Biochemistry, Leningrad, Pediatric Medical Institute, Vopr.med.chim.,Moskva 4,37o (1958)

65. STEPP,W., KÜHNAU,J., SCHROEDER,H.: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung
7. umgearbeitete und erweiterte Aufl., Band 2,598 (1957)
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

66. STEWART,C.P., HORN,D.B., ROBSON,J.S.: The Effect of Cortisone and Adrenocortico-Tropic Hormone on the Dehydroascorbic Acid in Human Plasma
Biochem.J. 53,254 (1955)

67. STODTMEISTER,R., SANDKÜGLER,S., FLIEDNER,A.T.M.: Dysregulatoric and cytostatic factors in the initial phase of bone marrow destruction by ionizing radiation. Their differential role for the possibilities of treatment
Proc.Conf.Peaceful Uses of Atomic Energy, Geneva 1958

68. STODTMEISTER,R., SANDKÜHLER,S., FLIEDNER,A.T.M.: Über die Pathogenese akuter Knochenmarkatrophie bei Ratten nach Ganzkörperbestrahlung mit schnellen Elektronen
Folia Haemat. 74,3o5 (1956)

69. STUDER,A., ZBINDEN,G., MEHLINGER,E.: Die Pathologie der Avitaminosen und Hypervitaminosen
Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Band 11, Teil 1, Springer Verlag (1962)

7o. STUDER,A.: Vitamine und andere Wirkstoffe im Handbuch der gesamten Hämatologie, Hrsg. L.Heilmeyer und A.Hittmaier, 2.Bd., 1. Halbband, Urban Schwarzenberg Verlag, München-Berlin (1959)

71. TAGI-Zade,S.B.: Vitamin C Exchange in Cancerous Patients During Radium Therapy Med.radiol. Moskva 6, Nr.11, S.1o/16, 1961

72. TAPPER,J.: Der Effekt der Ascorbinsäure auf Photonen bestrahltes und nicht bestrahltes Knochenmark in vitro Persönl.Mitteilung

73. VANHA-PERTULLA, T.P.J.: Effect of Vitamin C on circulating eosinophilic cells, Ann.Med.Exp.Fenn. 4o,67 (1962)

74. VILTER,R.W., WOOLFORD,E.M., SPIES,T.D.: Severe scurvy, a clinical and hematological study J.Labor. a Clin.Med. 31,6o9 (1946)

75. ZÀK,M.: Zur Frage der mitotischen Veränderungen im Knochenmark der Mäuse nach Einzeit-Röntgen-Ganzkörperbestrahlung Strahlentherapie 134,58 (1967)

Studie im Rahmen der Assoziation Hämatologie
EURATOM-GSF - Nr.: o31-64- 1 BIAD

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei Frau Professor Dr.med. Irene B o l l für die Überlassung des Themas und für die jederzeit zur Verfügung stehende Hilfe bedanken.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Dr. H.J. B e l i t z für die Überprüfung der Signifikanzberechnungen.

LEBENSLAUF

Am 21.2.1945 wurde ich, Willi-Reinhart Braumann, als Sohn des Kaufmanns Willi Braumann und seiner Ehefrau Irene in Magdeburg geboren.

Von 1950 bis 1957 besuchte ich in Magdeburg die Volksschule.

Im Juni 1957 erfolgte die Übersiedlung nach Berlin-West. Hier besuchte ich die Oberschule - Neusprachlicher Zweig - und legte im Februar 1965 die Reifeprüfung ab.

Von April 1965 bis April 1966 leistete ich den Wehrdienst im Sanitätsdienst der Bundeswehr ab.

Von Oktober 1966 bis Februar 1972 studierte ich an der medizinischen und an der philosophischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Am 1.2.1973 bestand ich das medizinische Staatsexamen an dieser Universität.

Seit dem 1.3.1973 war ich als Medizinalassistent tätig.

Am 1.3.1974 erhielt ich die Bestallung als Arzt.

Seit dem 1.4.1974 befinde ich mich in der Ausbildung zum Arzt für Frauenheilkunde und Geburtshilfe.